
ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

SUR LA NUTRITION INTRACELLULAIRE

Par M. E. DUCLAUX.

Si le mot aliment est facile à définir grammaticalement, il n'en est plus de même quand on se place au point de vue physiologique. On voit bien en gros qu'on a le droit d'appeler de ce nom toute substance qui entretient la vie des tissus, et peut servir à leur accroissement; mais, quand on entre dans le détail, les obscurités commencent : il y a animal et animal, tissu et tissu, et il n'est pas démontré que les aliments qui servent à la croissance soient identiques aux aliments d'entretien. Un enfant qu'on nourrirait de viande supporterait aussi difficilement ce régime qu'un soldat qu'on nourrirait de lait.

Cherche-t-on, pour éviter ces difficultés, une définition de l'aliment en lui-même, on rencontre la distinction classique des aliments en aliments respiratoires, destinés à être brûlés, à entretenir ainsi la chaleur corporelle, et comprenant les sucres, les corps gras et en général les substances ternaires; et en aliments plastiques, destinés à réparer les pertes des tissus et à entrer au moins temporairement dans leur constitution. Ces derniers sont exclusivement des substances azotées.

Mais classifier n'est pas définir. Cette classification semble d'ailleurs tout à fait arbitraire. C'est une idée enfantine que de

se représenter la cellule vivante comme se nourrissant par intus-susception des aliments plastiques, et se chauffant à la chaleur produite en dehors d'elle par les autres, comme nous nous chauffons devant une cheminée. Parmi les nombreux services que l'étude des levures, faite par M. Pasteur, a rendus à la science, il faut compter celui de nous avoir montré deux choses : la première, c'est que la transformation et la consommation du sucre sont un phénomène intracellulaire ; la seconde, qu'il peut y avoir de la chaleur produite et de l'acide carbonique dégagé en dehors de toute intervention de l'oxygène, et que par conséquent on n'a pas le droit de considérer comme solidaires et de réunir par un lien indissoluble les deux phénomènes du maintien de la chaleur animale et de la respiration. Entre les deux, il peut y avoir des intermédiaires utiles à envisager.

Il est d'ailleurs chimérique d'essayer de définir l'aliment en lui-même, en dehors de l'animal, du tissu ou de la cellule qui l'utilisent. Cherchons d'abord au regard de l'animal. On peut appeler, et on a en effet appelé aliment d'une espèce animale, toutes les substances qui, introduites dans l'organisme, s'y détruisent ou s'y transforment, de façon à ne pas reparaitre en nature dans les excréments ou les sécrétions. C'est ainsi, par exemple, que la cellulose de la paille est alimentaire pour le cheval et ne l'est pas pour l'homme. Mais cette définition est à la fois trop large et trop étroite ; trop large en ce qu'elle décerne la qualité alimentaire à des substances que l'organisme détruit en vertu de ses forces actives, mais sans en tirer profit, absolument comme un moulin broie les grains de sable qui lui arrivent en même temps que le blé ; trop étroite en ce que par exemple, d'après elle, le sel marin ne serait pas un aliment, parce qu'il s'élimine par les urines en quantités à peu près équivalentes à celles qui pénètrent dans le corps. Je prends cet exemple, parce qu'il a l'avantage de réveiller une idée de réserves alimentaires, idée que nous retrouverons tout à l'heure.

Il y a en outre une objection plus grave, c'est que dans cette définition, la qualité alimentaire dépend du mode de pénétration dans l'organisme. Le saccharose, le lactose, injectés dans les veines d'un chien, se retrouvent en totalité dans les urines. Ils ne reparaissent plus, quand on les fait arriver par la veine porte ou qu'ils passent tout simplement par le tube digestif. Ceci nous

conduit à pénétrer dans le détail de cet ensemble complexe qui constitue un être vivant, et à envisager non plus l'animal, mais le tissu, puisque les divers tissus d'un même animal peuvent avoir des propriétés diverses.

Mais pour arriver là, et même pour pousser plus loin (car il est clair que nous ne pourrions pas nous arrêter au tissu et qu'il faudra en venir à la cellule), il faudrait pouvoir suivre l'aliment dans son transit au travers de l'appareil digestif et de l'appareil circulatoire. C'est ce que nous ne savons faire que d'une façon très incomplète. L'enseignement le plus général et le plus sûr que nous fournisse la science à ce sujet est que l'aliment ne se présente pas d'ordinaire devant la cellule sous l'état dans lequel il a été ingéré. Pour pouvoir devenir nutritif, il a d'ordinaire besoin de subir une transformation préalable.

Il y a là évidemment plus qu'un hasard, il y a une nécessité. Tout principe alimentaire, en dehors des substances minérales, étant un produit de vie cellulaire, doit, du moment qu'il existe, avoir eu les moyens d'échapper à la consommation de la cellule qui l'a produit, être devenu inattaquable pour elle, soit qu'il fasse partie de ses éléments constitutants, soit qu'il forme dans son intérieur une réserve destinée à servir à des besoins ultérieurs. Il jouit donc, du moment qu'il existe, d'une certaine stabilité, stabilité relative bien entendu, qui n'existe qu'à l'égard des conditions dans lesquelles il s'est formé, mais qui n'en est pas moins réelle, et qui, l'ayant protégé contre l'action d'une certaine espèce de cellules, le protégera aussi contre l'action d'autres cellules, s'il arrive, comme l'expérience le démontre, que le nombre des modes de vie cellulaire est inférieur au nombre des matières alimentaires fournies par le règne végétal ou par le règne animal.

Cette stabilité relative peut s'effacer sous l'influence de causes bien diverses. Il suffira quelquefois d'un changement dans la réaction du milieu : c'est ainsi que le glucose qui résiste bien à l'oxydation dans un milieu acide, se détruit assez facilement dans un milieu alcalin. Le plus souvent, c'est l'action d'une diastase qui confère la qualité nutritive à une matière alimentaire. C'est ainsi, et seulement ainsi, que le saccharose et l'amidon entrent dans la consommation protoplasmique, aussi bien chez les animaux supérieurs que dans le monde des infiniment petits.

Je sais bien que cela a été contesté et qu'on a fait valoir par

exemple le cas de ces levures qui consomment le sucre d'une liqueur, sans jamais donner à celle-ci le pouvoir de réduire le réactif de Fehling. Mais c'est faute de s'entendre et de bien poser la question. On connaît des levures qui produisent beaucoup de diastase, et la laissent se diffuser dans le liquide ambiant, en quantités assez grandes pour qu'il s'y produise plus de glucose que les levures n'en demandent pour leur consommation journalière. Ces levures se font ainsi autour d'elles des greniers d'abondance. Chez d'autres levures, à diastase moins abondante ou moins diffusible, ces greniers sont moins pleins, et on arrive ainsi jusqu'à celles qui ne s'en font plus du tout, sans qu'on ait le droit de supposer que, pour elles, les conditions de vie protoplasmique soient autres que chez leurs congénères.

Si je rappelle maintenant qu'il n'y a, au point de vue de la nutrition, aucune ligne de démarcation entre les cellules des microbes et celles des animaux supérieurs, que partout les mêmes matières alimentaires sont rendues nutritives par les mêmes diastases, servent à des élaborations toutes pareilles, et fournissent les mêmes produits dont les uns entrent dans la construction de l'édifice cellulaire et les autres sont rejetés, on voit que les microbes nous fourniront un terrain excellent pour l'étude de la nutrition intime de la cellule, puisque avec eux cette cellule pourra être mise directement en présence de l'aliment, sans les intermédiaires obscurs par lesquels il faut passer chez les animaux supérieurs.

L'étude des levures, dont j'ai dit un mot plus haut, nous a déjà donné à ce sujet beaucoup de notions importantes que le travail ci-joint de M. Laurent augmente largement, mais son champ est borné, parce que la levure ferment n'est pas une espèce facilement *polyphage*. Quand on lui donne autre chose que les sucres qu'elle aime, sa vie est pénible; elle perd son rôle de ferment. Elle se contente de brûler les autres aliments à l'aide de l'oxygène qui lui arrive dans les profondeurs du liquide, ou elle les laisse inaltérés. Pour pouvoir varier davantage la nature de l'alimentation chez une espèce vivante, il vaut mieux s'adresser aux mucédinées, qui sont beaucoup moins difficiles sur le choix de leurs aliments nutritifs, et parmi celles-ci, les plus commodes sont l'*Aspergillus niger* étudié par M. Raulin et le *Penicillium glaucum* vulgaire.

Avec le premier, on a l'avantage de s'adresser à un être dont on connaît admirablement, en nature et en quantité, les aliments minéraux. Si donc, dans le liquide classique que M. Raulin nous a appris à composer pour lui, on remplace le sucre par une autre substance ternaire, on peut être sûr que la plante aura par ailleurs tout ce qui lui est nécessaire pour vivre, et que les modifications qu'elle subira par le fait de ce changement pourront être exclusivement rapportées au changement de la matière alimentaire. La nutrition minérale du *Penicillium glaucum* est moins bien connue; mais je me suis assuré qu'en additionnant le liquide Raulin de quelques millièmes de chlorure de calcium, on le rendait très propre à la culture de la plante, qui a d'ailleurs l'avantage d'être plus robuste que l'*Aspergillus niger*, et beaucoup plus accommodante comme nutrition.

Qu'il s'agisse de l'une ou de l'autre, quand elles sont en milieu favorable et qu'elles poussent bien, elles se défendent si victorieusement, elles et le liquide sous-jacent, contre l'immixtion des espèces étrangères, qu'on peut les cultiver à l'air, dans des cuvettes de porcelaine où l'air a large accès, sans craindre aucune impureté. Mais quand l'aliment hydrocarboné qu'on leur offre est moins bien approprié, il faut entourer leur culture de quelques précautions. Ce que j'ai trouvé de plus simple est de les cultiver sur un de ces vases de Bohême, à fond plat et à large goulot, qu'on trouve maintenant dans le commerce. On y introduit le liquide, et on le ferme par un bouchon d'ouate lâche. Pour pouvoir procéder de temps en temps à l'étude du liquide, on fait passer au travers du bouchon d'ouate un siphon à deux branches égales, effilées à leurs deux extrémités. On stérilise alors le tout à l'autoclave. On ensemece à la façon ordinaire, avec un fil de platine qu'on a promené dans une touffe jeune de fructification de la plante à étudier, et on porte à l'étuve, l'extrémité intérieure du siphon plongeant dans le liquide. Quand le premier développement est terminé, on soulève un peu le siphon et on s'en sert pour faire passer dans le vase un lent courant d'air, si on juge que l'activité de la végétation le demande. Pour puiser du liquide, il suffit d'enfoncer le siphon au travers de l'ouverture que le mycélium a laissée libre en se feutrant autour de lui, et d'aspirer avec précaution au moyen d'un court tube de caoutchouc.

I. — SACCHAROSE.

Le saccharose est l'aliment par excellence de l'*Aspergillus niger*, celui qui lui donne son développement le plus rapide, le plus abondant, le plus régulier et le plus complet. Le mycélium est très feutré, les filaments conidiens longs et érigés, le renflement terminal se couvre de rameaux verticillés qui, eux-mêmes, se ramifient et se terminent par un nouveau verticille de ramuscules, dont chacun porte un long chapelet de spores noires, dont la figure 4, page 104, ne représente que quelques-unes.

Aussi est-il intéressant de se demander ce qui arrive quand on supprime ce sucre, et quand on essaie de faire pousser des spores sur du liquide Raulin qu'on a débarrassé non seulement de son sucre, mais encore de son acide tartrique, qui peut, comme nous le verrons tout à l'heure, servir aussi à la rigueur de nourriture hydrocarbonée. La spore germe, pousse un tube mycélien grêle et court, et tout s'arrête bientôt, quand les réserves de la spore sont consommées.

Mais on peut ne supprimer le sucre que lorsque l'évolution est commencée, par exemple, lorsque le mycélium forme à la surface du liquide une pellicule déjà continue et résistante. Il suffit de décanter ce liquide, de laver une ou deux fois à l'eau distillée, et de rajouter du liquide Raulin réduit aux éléments minéraux, et acidulé au degré voulu par un peu d'acide sulfurique. L'inanition est alors mieux supportée. Il se forme çà et là des tubes sporifères, mais courts, leurs capitules sont incomplets et restent bruns au lieu de passer au noir, le nombre des spores du chapelet est toujours médiocre. Si on a attendu, pour supprimer le sucre, que les tubes sporifères soient déjà formés, alors que le capitule se réduit à un simple renflement absolument chauve, rien ou presque rien n'est changé à la fin de l'évolution. Les capitules sont aussi noirs et aussi fournis qu'à l'état normal.

Il est évident que dans cette plante, comme dans les plus élevées, cette partie importante du végétal se construit à l'aide de réserves, qu'on peut, du reste, mettre en évidence par l'expérience suivante.

On peut faire végéter l'*Aspergillus* et lui faire parcourir le cycle entier de son développement dans un liquide non sucré. Il

faut alors lui fournir de la matière azotée toute prête. Il consent alors à se faire de la cellulose et de la matière hydrocarbonée, de même qu'il consent à se faire de la matière azotée, quand on lui donne du sucre et des sels ammoniacaux ; mais on n'en obtient rien quand on lui demande à la fois ces deux tâches.

Prenons donc une dissolution de bouillon Liebig qui est un peu acide, et ne contient que des traces de matériaux non azotés parmi lesquels il y a un peu d'acide sarcolactique, ou bien, ce qui vaut mieux pour la plante, mais ne modifie pas les conclusions à tirer, prenons de l'eau de levure qui, en dehors de ses substances azotées, contient une petite quantité de matériaux intermédiaires entre la cellulose et l'ainidon, et aussi un peu de gomme ; et faisons deux cultures comparatives de l'*Aspergillus* sur un de ces liquides, sucré dans un cas et pas dans l'autre.

Sur le premier, le développement est aussi beau que sur du liquide Raulin, et en examinant au microscope, dans la lumière polarisée, le filament fructifère, on le voit rempli d'une substance doublement réfringente qui n'existe ni dans le filament mycélien, ni dans le capitule si le capitule est jeune, mais qui y pénètre et disparaît peu à peu du filament à mesure que les spores se forment. Ce filament a, d'ailleurs, cet aspect finement granuleux des cellules chez lesquelles la vie est active.

Cette substance biréfringente est beaucoup plus diffuse ou même semble manquer complètement dans le filament fructifère mûri sur de l'eau de levure ou du bouillon Liebig non sucrés, et en regard de cette différence, nous pouvons tout de suite en mettre une autre.

Quand on cultive de l'*Aspergillus* dans du bouillon Liebig ou de l'eau de levure, le mycélium ne se développe guère, les filaments fertiles ne sont pas nombreux, et on les voit disséminés par groupes à la surface du mycélium comme des groupes de palmiers microscopiques. Le poids de la plante dépasse en général le poids de matière hydrocarbonée contenue dans ce liquide, mais pas de beaucoup. En revanche, les dimensions des tubes mycéliens et conidifères sont normales. Parfois même la largeur semble un peu plus grande que dans du liquide Raulin. Mais il y a un organe nettement sacrifié, c'est le renflement terminal avec ses rameaux verticillés et ses chapelets de spores. Les rameaux, au lieu de recouvrir toute la surface du renflement et de former

touffe, se localisent de plus en plus au sommet, où ils forment bouquet, en laissant nu tout le reste. Dans ce bouquet, les rameaux se raréfient de plus en plus, et au lieu de se ramifier en ramuscules, ils portent eux-mêmes les spores. Quelques-uns même avortent ou portent à leur extrémité des renflements maladifs. Les spores sont peu nombreuses et peuvent ne pas

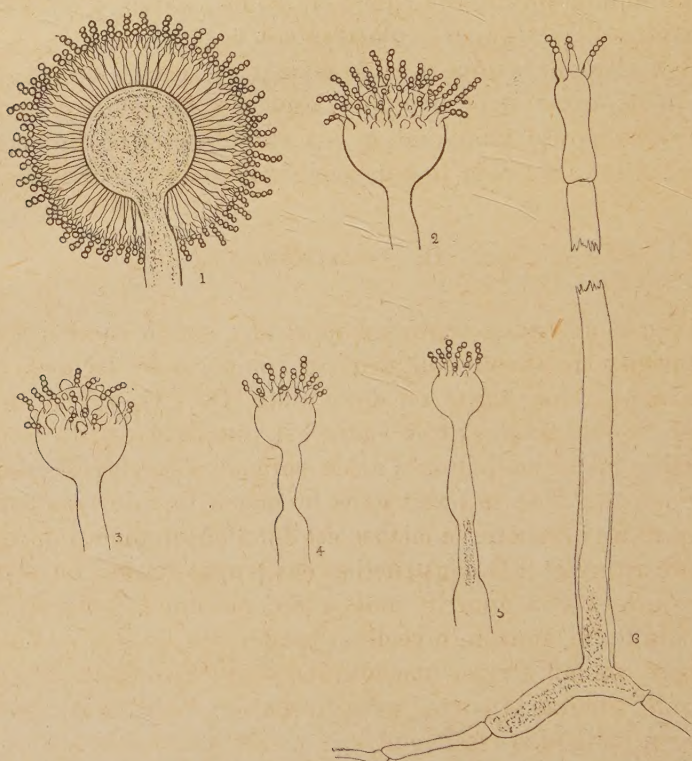


Fig. 1. — 1, 2, 3, 4, 5, 6, aspects divers du renflement conidien. On remarquera qu'en 6, le filament fructifère s'est cloisonné.

dépasser 2 ou 3 par chapelet. Enfin, au lieu du prendre une teinte noir foncé, elles restent brunes ou même jaunâtres. Parfois même la dégénérescence est telle qu'on hésiterait à reconnaître l'*Aspergillus*. La figure ci-jointe représente, au même grossissement de 500, un renflement normal, tel qu'on le rencontre dans le liquide Raulin, et des formes diverses, de la fructification des cultures pures sur bouillon Liebig ou dans l'eau de levure.

Ces spores imparfaites peuvent pourtant germer. Si on les reporte de nouveau sur bouillon Liebig ou eau de levure, elles donnent des plantes encore plus difformes, chez lesquelles les bouquets sporiques deviennent de plus en plus maigres et incolores. On est d'ailleurs bientôt arrêté par l'insuccès desensemencements. Mais si, à un moment quelconque, on transporte sur du liquide Raulin ces spores affaiblies, on les voit de suite reprendre de la vigueur et donner des végétations aussi belles et aussi abondantes que si elles avaient été prises sur une culture prospère; cela prouve que l'espèce n'a pas changé, mais qu'une mauvaise alimentation a surtout atteint la fonction de reproduction, et rendu passagèrement l'espèce méconnaissable.

II. — LACTOSE.

Avec ce que nous venons d'apprendre sur le saccharose, il est curieux de savoir comment se comporte le lactose. Son histoire peut être écrite en deux mots. De l'*Aspergillus*, semé sur du liquide Raulin où le sucre est remplacé par du lactose et l'acide tartrique par de l'acide sulfurique, ne se développe guère plus qu'il ne le ferait dans le même liquide sans sucre. Au contraire du sucre, le lactose est donc absolument impropre à la nourriture et à la construction des jeunes tissus. La plante peut pourtant s'en nourrir, mais à la condition d'être arrivée à l'état adulte. Si, sous un mycélium produit sur du liquide Raulin ordinaire, on fait arriver une solution de sucre de lait, ce corps est brûlé comme le sucre, avec formation intérimaire d'acide oxalique, mais plus lentement que le saccharose. Toutefois, la pellicule augmente de poids, mais moins qu'elle ne le ferait en consommant une quantité égale de sucre.

Il n'est pas facile de savoir à quoi ce lactose est surtout employé. En l'offrant à la plante, comme unique aliment, au moment où elle lance dans l'air ses tubes conidifères, on voit la sporulation se faire comme à l'ordinaire, et les bouquets de spores acquérir leur teinte noire normale. Mais nous avons vu que ce phénomène s'accomplit surtout à l'aide des réserves, et se ferait presque aussi bien en l'absence du sucre de lait.

L'augmentation de poids prouve pourtant qu'il y a création

de tissus nouveaux, et que si le lactose n'est pas un aliment de la plante jeune, il est un aliment de la plante adulte.

Cette conclusion doit être en rapport avec le mécanisme de la digestion du lactose. Il se transforme sous l'action des acides en galactose et en glucose, absolument comme le saccharose en lévulose et en glucose, et comme ce saccharose n'est jamais digéré qu'après cette transformation préalable, on a le droit de penser qu'il en est de même pour le lactose.

La justesse de cette hypothèse n'a pourtant été démontrée jusqu'ici par aucun argument vraiment probant, et nulle part on n'a pu saisir au passage ce galactose ou ce glucose qui résulteraient du dédoublement du lactose. Il était indiqué de l'essayer avec l'*Aspergillus*, qui ne doit peut-être de pouvoir se nourrir de lactose, à l'état adulte, que parce qu'il sécrète alors la diastase hypothétique qui dédouble ce sucre, et qu'il peut, en la laissant se diffuser dans le liquide, s'y préparer à l'avance de la matière alimentaire.

Il n'y avait donc qu'à voir si ce liquide contenait du galactose ou du glucose. Je dirai plus tard pourquoi on ne pouvait pas se servir pour cela de l'appareil polarimétrique. Mais, s'il y a dans le liquide du glucose fermentescible, on pourra le découvrir en soumettant ce liquide à la fermentation, ou en le faisant servir de substratum pour une nouvelle germination de spores d'*Aspergillus*. Sur ce dernier point, l'expérience prouve qu'elles y poussent mieux que sur une solution de lactose. J'avais cru trouver un meilleur argument en constatant que quelquefois, la solution de lactose, décantée après 24 heures de séjour sous la plante, avait pu subir une fermentation alcoolique véritable, avec fort dégagement gazeux. Mais j'ai découvert depuis que le sucre de lait peut aussi fermenter sous l'action de quelques levures, dont je ne pourrais pas certifier l'absence dans mes essais. C'est un sujet à reprendre.

III. — MANNITE.

La mannite se comporte comme le lactose vis-à-vis de l'*Aspergillus niger* : elle n'alimente pas la germination des spores, mais elle peut être brûlée par la plante adulte, en lui permettant une augmentation de poids; elle est brûlée avec formation intéri-

maire d'acide oxalique, et sans changer de nature, au moins en apparence, car d'une part, le pouvoir rotatoire de la liqueur reste inaltéré pendant toute la durée de la combustion, de l'autre, on n'y trouve, à aucun moment, autre chose que de la mannite. Sa disparition est encore plus lente que celle du sucre de lait.

Vis-à-vis de tous ces sucres, le *Penicillium glaucum* se comporte comme l'*Aspergillus*, mais il se montre en tout plus vivace. Il s'accommode, par exemple, beaucoup mieux des conditions défectueuses d'existence, et remplace volontiers l'*Aspergillus*, quand on fait des cultures à l'air sur des liquides Raulin à lactose ou à mannite. Il faut opérer en vases clos pour n'être pas exposé à ces envahissements, qui se font à l'aide des poussières de l'air, et alors même qu'on n'a semé que des spores pures d'*Aspergillus*.

IV. — AMIDON.

Examinons d'abord ce que devient l'amidon à l'état d'empois préparé à une température aussi basse que possible, de façon à réduire au minimum, si ce n'est à zéro, la proportion de matériaux réduisant la liqueur de Fehling. En remplaçant dans le liquide Raulin le sucre par son équivalent de cet empois, on voit la germination des spores et la végétation de la plante s'accomplir d'une façon tout à fait normale. La plante liquéfie l'amidon à l'avance, comme elle dédouble le sucre, et elle consomme les deux éléments dédoublés, toujours avec production intérimaire d'acide oxalique. La production d'acide et la production de sucre ne marchent pas naturellement du même pas : celle de l'acide marche d'accord, au moins pendant les premiers temps, avec la consommation alimentaire ; celle du sucre représente, au contraire, l'équilibre variable entre la recette et la dépense, entre la quantité d'amidon rendu assimilable sous l'action de l'amylase sécrétée par la plante, et la quantité de sucre consommée.

Cette faculté d'accommodation tient évidemment à ce que l'*Aspergillus* sécrète normalement, même lorsqu'il se nourrit de sucre, de l'amylase qui reste alors sans emploi, et devient la diastase nutritive dans le cas de l'empois d'amidon. Mais tout change, quand on emploie l'amidon cru.

La germination de la spore ne se fait pas sur un liquide Raulin, fait avec de l'amidon cru pour unique aliment hydrocarboné, l'acide tartrique étant remplacé par de l'acide sulfurique. Quand on laisse subsister l'acide tartrique dans la liqueur, c'est lui qui, comme nous le verrons tout à l'heure, suffit au premier développement de la plante, et, en lui permettant de traverser ce pas difficile, assure son avenir. La plante adulte peut, en effet, tirer parti de l'amidon cru, et voici ce qui se passe, quand, sous une pellicule prospère d'*Aspergillus niger*, on fait arriver de l'amidon en suspension dans l'eau.

Celui-ci se tasse d'abord au fond de la cuvette, et ne reste pas en contact avec le feutrage de mycélium superficiel; toutes les modifications qu'il va subir seront donc dues à des substances mises en solution dans l'eau par la plante.

Je prendrai pour type un amidon vendu comme amidon de riz, et très résistant. Au bout de 24 heures de séjour, on voit que les contours du granule sont légèrement crénelés, et après 48 heures, il présente une série de fentes irrégulières, rayonnant autour du hile; ces fentes s'élargissent et finissent par diviser le grain en une série de tronçons réunis autour du centre commun à la façon des pétales d'une fleur irrégulière. Ces tronçons se réduisent de plus en plus, et tout finit par se réduire à des granulations imperceptibles.

Cette corrosion, due évidemment à l'inégalité de résistance des couches superposées dans le granule, peut se manifester autrement, et attaquer ces couches par la tranche, en les dissolvant d'autant plus vite qu'elles sont moins résistantes. Un globe d'amidon se présente alors avec les aspects d'un navet qu'on aurait irrégulièrement façonné au tour. Ce sont ces deux modes de corrosion qu'on observe aussi bien dans le levain et le canal digestif des granivores, qu'au contact de tous les microbes qui sécrètent de l'amylase, et sont capables par là de se nourrir d'amidon cuit. Ils me paraissent être le résultat de l'action de l'amylase sur l'amidon cru, mais, comme cette action est toujours lente, il doit y avoir une autre diastase capable d'agir sur cet amidon cru. Cette diastase est encore à découvrir.

Je dois dire tout de suite que cette corrosion ne se fait pas également sur tous les grains. On rencontre souvent, surtout dans l'amidon de riz dont je me suis servi, des grains plus petits

et plus ronds que les autres, qui sont bien de l'amidon, car ils bleuissent par l'iode, mais qui restent inaltérés dans des conditions où les autres ont disparu. Il y a donc amidon et amidon, même dans la même plante.

En même temps que ce travail se poursuit, on voit apparaître du glucose, qui est brûlé peu à peu avec formation intérimaire d'acide oxalique. Le mycélium augmente de poids. Il est clair, sans que j'aie besoin d'insister, que l'amidon cru peut servir d'aliment à l'âge adulte, mais ne fournit qu'une alimentation médiocre.

V. — ALCOOLS.

L'étude des alcools va nous donner un exemple nouveau, et qui, à son tour, ne restera pas isolé, de la variété d'aspects sous lesquels peut se présenter à l'observation ce simple mot d'*aliment*. Quand on remplace par son équivalent en poids d'alcool, le sucre du liquide Raulin normal, on constate que la germination des spores se fait plus mal que dans le même liquide sans sucre : l'alcool gêne donc, ou même arrête l'action que pourrait produire à lui seul l'acide tartrique de la liqueur.

Il en est tout autrement quand on opère sur la plante adulte et sur un mycélium déjà formé. L'alcool est alors consommé avec une rapidité presque égale à celle du sucre, toujours avec formation intérimaire d'acide oxalique. Je n'ai jamais observé de production d'acide acétique. De plus, la végétation de la plante semble en recevoir un coup de fouet. On voit apparaître autour du tapis noir de spores, dans les régions où il ne recouvre pas complètement le liquide sous-jacent, un mycélium blanc de nouvelle formation, qui pousse ses tubes sporifères et noircit ses capitules à peu près aussi vite qu'il le ferait dans un liquide sucré. La plante en outre se défend mieux, les envahissements par le *Penicillium* sont moins à craindre. Bref, l'alcool, funeste à la plante en voie de germination, semble très bien convenir à la plante adulte, qui peut en supporter jusqu'à 6 et 8 0/0 dans le liquide nourricier. L'emploi du compte-gouttes, qui donne de très bons renseignements avec 5^{cc} de liquide, est très commode pour étudier ces phénomènes.

A mesure qu'on s'élève dans la série des alcools, on voit se res-

serrer les limites dans lesquelles il faut maintenir la proportion d'alcool pour permettre à la plante de le brûler, c'est-à-dire celles dans lesquelles l'alcool agit sur la plante adulte autrement que sur la plante en germination. Avec l'alcool butylique et surtout l'alcool amylique, on a tout de suite des effets toxiques sur les deux états de la plante. Nous retrouverons bientôt avec l'acide acétique et l'acide butyrique des phénomènes de même ordre.

La glycérine occupe une place intermédiaire entre les alcools monoatomiques et les glucoses. A dose élevée, elle tue la plante, à dose faible elle se comporte exactement comme le lactose.

VI. — ACIDE TARTRIQUE.

J'ai déjà dit que l'*Aspergillus niger* pouvait se contenter d'acide tartrique comme aliment hydrocarboné. Il en supporte et en brûle des doses assez considérables, et on arrive à peu près au même résultat, quant à la beauté de la végétation, qu'on ajoute peu à peu l'acide tartrique dans le liquide nutritif, ou qu'on le mette en une seule fois : le développement est complet, et les spores nombreuses et noires.

Quand on opère sur du liquide Raulin sans sucre et renfermant sa dose normale d'acide tartrique, c'est-à-dire 4 grammes par litre, la plante assure toujours sa reproduction, c'est-à-dire que son développement aboutit toujours à la formation des spores, mais son mycélium est peu abondant, et bien que la couche sporifère soit noire, les filaments conidiens et les capitules sont peu serrés. Si on transporte ces spores sur une nouvelle liqueur tartrique semblable à la première, la couleur noire des capitules diminue encore d'intensité, et en multipliant ainsi les ensemencements successifs, on arrive à obtenir des spores à peine colorées en brun verdâtre. Ensemençons alors sur du liquide Raulin complet ces spores décolorées, et faisons un ensemencement comparatif avec des spores normales, nous constaterons au bout de 3 jours les signes les plus manifestes d'une influence héréditaire, malgré les bonnes conditions du milieu nutritif. La cuvette ensemencée avec des spores provenant du sucre est noire, et ses capitules sont très volumineux. Dans l'autre, ils sont moins gros et d'un brun clair. Le diamètre du renflement

est à peu près le même; il n'y a pas de différence non plus dans la grosseur du filament sporifère, ni dans le diamètre transverse des filaments mycéliens, mais les stérigmates sont plus larges et plus courts dans la cuvette où les spores proviennent de cultures sur l'acide tartrique; les spores sont moins abondantes. Ces différences vont en s'effaçant à une seconde culture, et ont disparu à une troisième. Elles disparaissent déjà à la première si on a employé, pour la culture des spores sur l'acide tartrique, des liqueurs plus riches en acide, en renfermant par exemple 15 à 20 grammes par litre. Voilà donc un cas où la *qualité* de l'aliment n'est pas seule à jouer un rôle, et où nous voyons sa *quantité* intervenir et amener des influences héréditaires.

Le tartrate de potasse est aussi brûlé avec formation intérieure d'oxalate de potasse qui finit par devenir du carbonate de potasse, dont l'alcalinité suspend et arrête tout développement nouveau.

VII. — ACIDE ACÉTIQUE ET ACIDE BUTYRIQUE.

Avec ces deux acides, les phénomènes sont du même ordre que ceux que nous avons constatés pour les alcools. L'acide acétique est toléré et brûlé à des doses assez considérables, allant jusqu'à 8 et 10 %. L'acide butyrique n'est toléré et brûlé qu'à des doses plus faibles, qui ne peuvent guère dépasser 1 à 2 grammes par litre, suivant l'état de vitalité et de jeunesse de la couche mycélienne à laquelle on le présente. Au delà de ces doses, il devient éminemment toxique, et, à la dose de 5 grammes par litre, il tue les filaments mycéliens, de façon à les rendre inertes quand on leur offre ensuite de l'eau sucrée à consommer.

Voilà donc une substance qui est alimentaire, à faibles doses, pour la plante adulte, et mortelle à des doses supérieures. On peut se rappeler, à ce sujet, que la chose semble tout à fait générale, et que les microbes, très nombreux, qui peuvent fabriquer de l'acide butyrique, n'en produisent des quantités sensibles que si on introduit dans la liqueur en fermentation du carbonate de chaux qui sature l'acide au fur et à mesure de sa production. Le butyrate de chaux est, en effet, facilement consommé par l'*Aspergillus* qui laisse à sa place des cristaux rhomboédriques de spath calcaire.

On peut se demander ce qui arrive lorsqu'on offre à la plante un mélange d'acide acétique et d'acide butyrique à des doses supportables. Il est très facile, en se servant de la méthode de distillation fractionnaire que j'ai fait connaître, de se renseigner sur la composition du mélange, après quelques jours d'action. On constate alors que l'acide acétique est brûlé plus rapidement que l'acide butyrique.

Il en est de même avec un mélange d'acide acétique et d'acide tartrique. Bien que ce dernier soit, comme nous l'avons vu, un aliment convenable, il disparaît moins vite que l'acide acétique. Ce n'est donc pas la qualité toxique de l'acide butyrique qui le protégeait dans l'expérience de tout à l'heure. Toutefois, l'acide acétique persiste longtemps dans son mélange avec l'acide tartrique. Au bout de deux jours de combustion d'un mélange à équivalents égaux, j'ai trouvé qu'il restait encore 50 % de l'acide tartrique, tandis que 95 % de l'acide acétique avaient déjà disparu.

Nous retrouverions des résultats du même ordre avec l'acide lactique qui est aussi brûlé, toujours avec formation intermédiaire d'acide oxalique. Le lactate de chaux disparaît aussi sous l'action de la plante, avec formation d'oxalate de chaux et de cristaux rhomboédriques de saph calcaire qui feutrent le mycélium. Dans un mélange à équivalents égaux d'acide lactique et d'acide acétique, c'est ce dernier qui est brûlé tout d'abord, cette fois sans que l'acide lactique soit atteint, au moins dans les commencements. La plante n'a recours à lui et ne le brûle que lorsque l'acide acétique commence à se faire rare.

On voit en résumé, par tous ces exemples, combien se complique, quand on l'examine d'un peu près, la signification en apparence si simple du mot aliment. Il y a des aliments de croissance, d'âge mûr, de réserve, d'attente, des aliments de fonction qui ne sont utiles qu'à une certaine période de la vie de la plante et pour certaines de ses cellules, etc., etc.. Je n'ai pas la prétention que toutes ces notions soient nouvelles; beaucoup d'entre elles existent à l'état flottant dans la science; mais je n'ai pas cru sans intérêt de les montrer toutes en jeu dans l'alimentation d'un végétal unique, presque rudimentaire, et dont on pourra trouver un peu imprévue l'exquise sensibilité.

NUTRITION HYDROCARBONÉE

ET FORMATION DE GLYCOGÈNE CHEZ LA LEVURE DE BIÈRE

PAR E. LAURENT.

Les êtres privés de chlorophylle ou d'une substance analogue sont incapables d'assimiler l'acide carbonique ; néanmoins ils nous offrent des exemples remarquables de synthèses organiques. Tels sont beaucoup de microbes et surtout les levures, les formes-levures et les moisissures les plus communes. Cultivés dans des solutions qui renferment un aliment hydrocarboné de structure relativement simple, ces champignons se développent assez rapidement et se font des substances sucrées et albuminoïdes. Pour atteindre un pareil résultat, le protoplasme doit transformer un corps organique peu compliqué, acétates, lactates, etc..., en corps plus complexe. C'est là un travail de synthèse comparable à la production de sucre et d'amidon dans la cellule verte exposée à la radiation solaire.

Parmi les champignons inférieurs, la levure de bière se distingue par la variété des substances qui peuvent lui servir d'aliment hydrocarboné. Les études de M. Pasteur, de M. Naegeli et de quelques autres expérimentateurs avaient jusqu'ici démontré que ce microbe peut se nourrir des sucres, de la mannite, de la glycérine, de la dextrine, de l'amygdaline et de la salicine.

Dans le but d'étendre nos connaissances dans cette direction, j'ai fait un grand nombre d'essais avec des solutions organiques très variées. Afin d'éviter les erreurs qu'auraient pu causer des organismes étrangers, j'avais soin de stériliser les liquides et de n'employer, comme semence, que de la levure pure obtenue par la culture sur gélatine. La race employée est celle qui à Bruxelles sert à la préparation de la bière brune. C'est une levure haute très vigoureuse. Quelques essais m'ont montré que d'autres

racés de levures, hautes et basses, conviennent tout aussi bien à ces essais et donnent les mêmes résultats.

La concentration des liquides organiques employés était dans la plupart des cas de 1 0/0 ; lorsque la substance est alimentaire, cette proportion suffit à la production d'un dépôt assez important.

La matière organique était ajoutée au liquide minéral suivant, calculé d'après la composition moyenne de la levure.

| | |
|----------------------------------|---------------------|
| Eau | 1,000 ^{cc} |
| Sulfate d'ammoniaque | 4 ^{gr} ,71 |
| Phosphate de potassium | 0 ^{gr} ,75 |
| Sulfate de magnésium | 0 ^{gr} ,1 |

Les cultures faites à la température ordinaire ou à 25° environ duraient au moins cinq ou six jours ; avec les substances peu favorables, elles furent parfois conservées pendant deux ou trois mois.

Mes recherches ont montré que la levure peut emprunter sa matière organique aux corps suivants :

| | |
|--|---|
| Acétates. | Gélose. |
| Glycol éthylénique. | Lichénine. |
| Acide lactique. | Glycogène. |
| Lactates. | Gomme arabique. |
| Malonate de potassium. | Érythrodextrine et dextrine. |
| Acide succinique et succinate d'ammoniaque. | Saccharate de potassium. |
| Pyrotartrate de potassium. | Acide mucique. |
| Glycérine. | Acide fumarique. |
| Glycérites. | Leucine. |
| Acide malique et malates. | Acides aspartique, glutamique. |
| Érythrite. | Asparagine, glutamine. |
| Acides tartriques et tartrates. | Salicine, amygdaline, esculine, coniférine, arbutine, saponine. |
| Acide citrique et citrates. | Atropine, colchicine. |
| Quercite. | Gélatine. |
| Mannite. | Albumine de l'œuf. |
| Sucres en C ⁶ H ¹² O ⁶ et C ¹² H ²² O ¹¹ . | Caséine. |
| Empois d'amidon et amidon soluble. | Peptone et caséone. |

La levure ne peut assimiler :

| | |
|--------------------|--------------------|
| Alcool méthylique, | Éther éthylique, |
| — éthylique, | — acétique. |
| — propylique, | Aldéhyde acétique. |
| — butylique. | Paraldéhyde. |

| | |
|-------------------------------|----------------------------------|
| Acide formique et formiates, | Quinone. |
| — propionique et propionates, | Saligénine. |
| — butyrique et butyrates, | Benzoates. |
| — valérianique et valériانات. | Saccharine. |
| Stéarate de potassium. | Salicylates. |
| Alcool allylique. | Gallate et tannate d'ammoniaque. |
| Oléate de potassium. | Acide digallique (tannin). |
| Acide oxalique et oxalates, | Aniline et chlorure d'aniline. |
| — pyrotartrique et glycérique | Diphénylamine. |
| libres. | Chlorhydrate de naphtylamine, |
| Méthylamine. | — de phénylhydrazine. |
| Éthylamine. | Phloridzine. |
| Propylamine. | Pyridine. |
| Glycocolle. | Chlorhydrate de cocaïne, |
| Hippurate de sodium. | — de morphine, |
| Formamide. | — de strychnine, |
| Acétamide. | — de brucine. |
| Urée. | Caféine. |
| Phénol. | Sulfate neutre de quinine, |
| Acide picrique. | — de cinchonamine, |
| Hydroquinone. | — d'atropine. |
| Phloroglucine. | Nucléine. |

Toute étude physiologique sur la levure de bière éveille à l'esprit l'idée de fermentation. Il convient pourtant de distinguer pour une matière organique donnée, le pouvoir nutritif et la propriété de subir la fermentation alcoolique, plus directement liée aux phénomènes de respiration.

Pour tous les corps qui j'ai étudiés, je me suis assuré qu'il n'y en a point qui puissent donner de l'alcool, en dehors des sucres déjà connus. Mais il y a ici un autre point de vue digne d'attention. Non seulement les corps autres que les sucres ne conviennent pas à la vie ferment, mais pour pouvoir servir d'aliment, ils doivent être consommés au contact de l'air. Afin de m'en convaincre, j'ai cultivé de la levure dans des tubes à essais contenant quelques centimètres cubes des solutions suivantes additionnées de matières minérales :

| | |
|----------------------------------|-------|
| Glycérine | 5 0/0 |
| Lactate de potassium | 2 0/0 |
| Tartrate de potassium | 2 0/0 |
| Succinate d'ammoniaque | 2 0/0 |

Des cultures servant de témoins ont été laissées au contact de l'air, protégées contre les poussières par un tampon d'ouate. Dans

une autre série, les tubes à essais ont été étirés, puis j'y ai fait le vide au moyen de la pompe à mercure. Après un mois, les solutions exposées à l'air avaient donné des dépôts de cellules de levure relativement volumineux ; dans le vide, l'accroissement avait été beaucoup moindre. J'attribue le faible développement qui s'y est fait, à l'oxygène que la levure avait dû fixer avant d'être privée d'air.

La levure de bière n'est pas seulement capable de se nourrir des substances organiques dont je viens de faire l'énumération. Lorsque la nutrition est suffisamment favorable, elle peut faire des réserves hydrocarbonées. Comme dans la grande majorité des champignons, ces réserves sont chez la levure constituées par du glycogène. La nature glycogénique de ces réserves a été établie par M. Errera ¹.

L'existence d'une réserve hydrocarbonée chez la levure a été signalée pour la première fois par M. Pasteur ². Ce savant avait constaté que de la levure ajoutée à de l'eau sucrée augmente non seulement de poids, mais que sa substance hydrocarbonée s'accroît dans une proportion très sensible. Pour M. Pasteur, c'était du sucre qui s'était transformé en cellulose ; aujourd'hui, nous comprenons mieux ce phénomène : il y avait eu production de glycogène.

Plus tard, M. Béchamp retira de la levure une matière gommeuse ³, qui fut par la suite étudiée par MM. Naegeli et Lœw ⁴. D'après M. Naegeli, ce mucilage provenait de la membrane.

Il faut rapprocher de ces premiers travaux sur l'existence d'une réserve hydrocarbonée chez la levure cette ancienne observation vérifiée par M. Pasteur et M. Béchamp, que de la levure de bière délayée dans l'eau pure et abandonnée à elle-même, laisse dégager de l'acide carbonique. En outre, il se forme dans le liquide de l'alcool, dont la proportion augmente de jour en jour.

Les expériences de MM. Schutzensberger et Destrem ⁵ ont

1. L. ERRERA, l'Epithème des Ascomycètes et le glycogène des végétaux Bruxelles, 1882.

2. PASTEUR, Mémoire sur la fermentation alcoolique, *Ann. de Chimie et de Physique*, 3^e série, t. LVIII, et *Comptes rendus*, t. XLVIII, p. 640.

3. *Comptes rendus*, t. LXXIV, p. 187.

4. *Sitzungsber. der K. bayer. Akad. der Wiss.*, VIII, p. 461, 1878.

5. *Comptes rendus*, LXXXVIII, p. 239 et 493, 1874, et *Bull. de la Soc. chim. de Paris*, t. XXI, p. 204.

permis d'interpréter cette production d'alcool en apparence inexplicable. Elles ont démontré que dans les essais de culture de la levure dans l'eau distillée, elle subit une perte de poids notable qui porte surtout sur le carbone. Dans les expériences d'autophagie et d'auto-fermentation, cet organisme doit donc détruire une matière hydrocarbonée, qui, au contraire, reste ou est remplacée dans les cas de fermentation ordinaire.

Après avoir discuté la nature de cette réserve, M. Errera arrive à cette conclusion qu'il doit exister dans le protoplasme de la levure quelque hydrate de carbone assez facile à saccharifier. L'examen microchimique avait permis à cet observateur de constater que des levures de brasserie renferment 5 à 6 % de cellules qui prennent une coloration rouge brun acajou sous l'action de l'iode, comme le fait le glycogène. Des tentatives d'extraction de cette substance ne donnèrent pas de résultats bien précis : les réactions ne concordaient pas complètement avec celles du glycogène animal. Néanmoins, des travaux de ses devanciers et de ses propres analyses, M. Errera¹ concluait dès 1882 que la levure renferme du glycogène typique.

Trois années plus tard, le même auteur a affirmé ce fait en se fondant sur la culture de la levure dans une solution minérale additionnée de sucre et portée à 30° environ².

« Dans une culture vigoureuse de levure de bière, on remarque bientôt que toutes les cellules ne se colorent plus toutes uniformément en jaune par l'iode, comme elles le font d'ordinaire dans la levure primitive. Plus la culture est vigoureuse, plus on trouve des cellules de levure que l'iode colore en brun rouge. Avec quelque attention, il est facile de constater que ces cellules donnent très nettement toutes les réactions indiquées pour le glycogène : la teinte brune disparaît à chaud et réparaît à froid ; si l'on écrase les cellules, on voit la substance brune se dissoudre dans l'eau qui les entoure ; en opérant sur un petit amas de cellules de levure, comme il s'en forme toujours dans les préparations, on s'assure même qu'à l'endroit précis où l'on a écrasé les cellules colorées par l'iode, le liquide prend une nuance brun-rouge qui, elle aussi, disparaît par la chaleur et revient par le refroidissement. Après l'écrasement et la dissolution du glycogène, les

1. *Loc. cit.*, p. 34.

2. *Comptes rendus*, t. CI, p. 258, 1885.

restes des cellules de levure se colorent seulement en jaune par l'iode, à la manière des substances albuminoïdes. Dans beaucoup de cellules de levure, le glycogène forme un amas semi-lunaire, réfringent, comme on l'observe souvent dans le règne animal; d'autres fois, le glycogène est si abondant qu'il remplit toute la cellule. »

Pour observer la production de glycogène dans la levure, il ne suffit pas toujours de la cultiver dans des liquides nutritifs. Lorsque la croissance est rapide, on ne peut souvent s'apercevoir de la présence de cette réserve par l'examen microscopique le plus attentif. Il en est de même pour les mycéliums de moisissures communes, développés dans des solutions organiques. Mais cultivés sur gélatine sucrée, ces mycéliums présentent toujours la réaction du glycogène de la manière la plus évidente. Cette remarque me fit essayer la réaction du glycogène avec les colonies de levure cultivée sur moût de bière gélatinisé. Dès le troisième ou le quatrième jour de culture, l'iode leur donne une coloration d'un rouge foncé presque noir; les cellules sont gorgées de glycogène.

Une telle abondance de réserves s'explique aisément si l'on réfléchit que, sur un milieu solide, l'accroissement de la levure est contrarié par la consistance du milieu.

A partir du moment où je fis cette observation, j'adoptai pour mes recherches sur la formation de glycogène la culture sur gélatine, concurremment avec les essais dans des solutions nourricières.

Toutes les variétés de gélatine que l'on rencontre dans le commerce ne conviennent pas à ces expériences, car elles ne sont pas également alimentaires pour la levure. Il faut faire choix d'une qualité qui permet, lorsqu'elle est privée de toute autre matière organique définie, la production de très petites colonies dépourvues de glycogène.

Quoique la gélatine renferme assez de matières minérales pour le développement des colonies de levure, j'ai préféré la dissoudre dans le mélange salin que j'ai indiqué précédemment. Une proportion de 7,5 0/0 de gélatine suffit lorsque la température ambiante ne dépasse pas 20°. Le mélange était réparti par 5 centimètres cubes dans des tubes à réaction, et j'y ajoutais la substance à soumettre à l'essai. Le tout était sté-

rilisé à la vapeur, puisensemencé avec une très petite quantité de cellules de levure.

L'examen des colonies colorées par l'iode ne suffit pas à démontrer la présence du glycogène dans la levure cultivée sur gélatine. Il est prudent de faire en outre l'examen microscopique des cellules afin d'avoir une certitude complète.

La gélatine additionnée de substances peu nutritives, comme les acétales, tartrates, etc., donne rarement des colonies à cellules riches en réserves; dans ce cas, il est plus avantageux d'observer les dépôts formés dans les solutions de ces substances.

J'ai constaté la production de glycogène par la levure aux dépens de :

Lactates,
Acide succinique et succinate d'ammoniaque,
Glycérine,
Acide malique et malates,
Mannite,
Sucres en $C^6H^{12}O^6$ et $C^{12}H^{22}O^{11}$,
Glycogène,
Gomme arabique,
Erythroextrine et dextrine,
Acide mucique,
Asparagine et glutamine,
Salicine, amydaline et quelques autres glycosides,
Albumine de l'œuf,
Peptone et caséone.

Il ne faut pas cependant exagérer la distinction des corps facteurs et non facteurs de glycogène chez la levure. L'existence de la réserve hydrocarbonée peut être toute passagère; faute d'observations microscopiques assez nombreuses, elle peut échapper à l'examen.

*
* *

Est-il possible de déterminer la quantité de glycogène que renferme un poids de levure riche en réserves hydrocarbonées? La réponse à cette question n'est pas des plus faciles. Il est indispensable, si l'on veut doser le glycogène en nature, de détruire les membranes cellulaires du champignon. Elles sont si résistantes que les réactifs qui les dissolvent, attaquent, en même temps, la réserve hydrocarbonée et la transforment en produits

sucrés. On ne peut non plus briser les membranes au moyen du pilon et extraire le glycogène par les procédés adoptés en physiologie animale. Beaucoup de cellules, je m'en suis assuré, résistent à ce traitement, quelle qu'en soit l'énergie.

Il fallait donc trouver une méthode indirecte capable de fournir des indications assez exactes sur la quantité de matières hydrocarbonées autres que la cellulose que renferme la levure.

Trois procédés étaient à ma disposition :

1° Transformer par un acide le glycogène en sucre réducteur, sans altérer les membranes.

2° Peser un poids de levure bien nourrie, à réserve abondante, épuiser un poids égal par autophagie, et déterminer la perte de poids.

3° Doser la quantité d'alcool produite par un poids de levure soumise à l'autophagie et en déduire la quantité de matière sucrée consommée.

Aucun de ces procédés ne peut fournir des indications absolument précises. Pour le premier, on peut objecter que les couches cellulosiques sont exposées à se trouver attaquées par des acides et donner également du sucre réducteur. Dans les phénomènes d'autophagie, il n'y a pas seulement que du sucre consommé, mais aussi une certaine quantité de matières albuminoïdes.

Le dosage de l'alcool ne peut pas atteindre une précision très rigoureuse. Enfin, il convient encore de remarquer que, par ces moyens, on évalue la réserve glycogénique augmentée de la proportion de sucre intracellulaire qui n'est pas encore ou qui n'est plus à l'état de glycogène.

Néanmoins, je me suis décidé à adopter les trois procédés et à en comparer les résultats. Il s'en dégage, comme on va le voir, une notion suffisamment nette sur l'importance des réserves hydrocarbonées de la levure.

Des essais préliminaires m'avaient montré que les liquides qui renferment de 10 à 15 0/0 de saccharose sont, pour la levure de bière, les plus favorables à la formation du glycogène. Cette notion acquise, il y avait lieu de posséder quelques indications sur le temps nécessaire à l'accumulation et à la disparition de glycogène à l'intérieur des cellules. Plusieurs expériences ont

été établies dans ce but. Voici les résultats fournis par l'une d'elles.

Le 20 décembre 1887, à midi, je mets sur un dépôt épuisé de levure 20 centimètres cubes de liquide de touraillons additionné de saccharose à 10 0/0; après agitation, la culture est placée à la température de 28°. Le même jour, à 5 heures, la réaction du glycogène est très nette dans les cellules adultes qui ne sont pas trop âgées. Le lendemain à 10 heures, il y a énormément de glycogène dans le dépôt. La même observation fut faite le 22 et le 23 décembre. Le 24, à 5 heures du soir, la quantité de glycogène a diminué; la plupart des cellules les plus âgées des amas cellulaires n'en renferment plus; au contraire, les cellules les plus jeunes se colorent par l'iode en rouge brun assez foncé.

Les jours suivants, le reste du glycogène ne disparaît pas, ce que j'attribue à l'influence de l'alcool produit dans le liquide. Pour m'en assurer, le 27 décembre, je décante le liquide et je verse sur la levure 20^{cc} de liquide de touraillons non sucré. Au bout de 24 heures, la quantité de glycogène a fortement diminué; le 30, il n'y en a plus de traces.

A la suite de cet essai, j'ai conclu que la quantité de glycogène augmente graduellement dans les cellules de levure, qu'elle diminue ensuite, et disparaît lorsque l'énergie de la fermentation n'est pas diminuée par l'influence de l'alcool.

Plusieurs expériences ont été faites dans le but d'évaluer la réserve hydrocarbonée de la levure. Celle dont voici l'exposé m'a donné les résultats les plus complets et les plus remarquables.

Le 20 octobre 1888, après midi, je prends 20 grammes de levure de bière pressée, provenant de brasserie; elle était relativement très pure et absolument dépourvue de fécule. Dans les cellules, je trouve un peu de glycogène.

Je délaye cette levure dans du liquide de touraillons pour faire exactement 200^{cc} et je mets le matras à l'étuve à 20-22°. Afin de faciliter la désagrégation des grumeaux formés par la levure, j'agite le contenu du vase toutes les demi-heures.

En même temps, je dessèche 10 grammes de cette levure pour évaluer la quantité de matière sèche qu'elle renferme; je trouve 2^{gr}, 276.

2 grammes sont délayés dans 200^{cc} d'eau distillée à laquelle

j'ajoute 5^{cc} d'acide sulfurique. Je m'étais assuré au préalable que l'ébullition avec l'acide ainsi dilué saccharifie la réserve glycogénique, mais respecte les membranes cellulaires. Une concentration plus forte en provoque la désagrégation. Après cinq heures d'ébullition du mélange indiqué, j'ai dosé pour les deux grammes de levure, 0^{gr},086 de sucre avec la liqueur de Fehling.

La levure employée renferme donc pour 2 grammes de poids frais ou 0,4532 poids sec, 0,086 de matières hydrocarbonées, soit 18,9 0/0. Il en est souvent ainsi dans les levures de brasserie, qui, à cause de l'influence de l'alcool des bières, ne peuvent digérer les derniers restes de leurs réserves nutritives.

Les 20 grammes de levure délayés dans les 200^{cc} de liquide de touraillons contiennent donc 0^{gr},860 de matières hydrocarbonées.

Le 20 octobre, à 6 heures du soir, je verse les 200^{cc} du mélange préparé quelques heures auparavant dans 800^{cc} de liquide de touraillons avec 13 0/0 de saccharose. Le tout constitue un litre de liquide et renferme 12 0/0 de sucre. Ce mélange est placé pendant la nuit à 28° jusqu'au lendemain 8 heures du matin. Il est alors fortement agité pour le rendre bien homogène. Les cellules de la levure sont littéralement bourrées de glycogène.

Les 4,000^{cc} de liquide sont répartis en dix portions aussi égales que possible. Les cinq premières sont retirées le 21 à 8 heures 1/2 du matin.

Première portion. — Elle est filtrée, lavée à plusieurs reprises avec l'eau distillée; puis la levure est délayée dans 100^{cc} d'eau distillée, abandonnée pendant la nuit à la température de 8 à 12°, dans le but de doser le sucre qui aurait pu diffuser au travers des membranes cellulaires. Le 22 octobre, à 10 heures, je trouve dans le liquide 0,4 0/0 de sucre et 0,05 0/0 d'alcool. Le dosage du sucre est fait au moyen de la liqueur de Fehling, et pour l'alcool j'emploie le compte-gouttes de M. Duclaux. Trois jours plus tard, tout le sucre a disparu, mais il y a 0,4 0/0 d'alcool. La levure desséchée pèse 0^{gr},464.

Deuxième portion. — La deuxième portion est d'abord traitée de la même manière que la première, puis placée à 28° pour servir à une expérience d'autophagie. Le 22, au matin, les cel-

lules sont encore très riches en glycogène; celui-ci a complètement disparu le lendemain matin, et je trouve :

| | |
|--------------------------|-----------------------|
| Poids de levure. | 0 ^{gr} ,4625 |
| Alcool. | 0,1 0/0 |
| Sucre | 0,0 |

Troisième et quatrième portions. — 200^{cc} sont filtrés, et la levure, après lavage, est délayée dans 200^{cc} d'eau distillée; j'y ajoute 5^{cc} d'acide sulfurique, puis je fais bouillir pendant cinq heures. Les membranes cellulaires ont résisté à ce traitement et présentent dans leur intérieur des corpuscules brillants assez gros, constitués sans doute par les débris d'albuminoïdes. Le liquide donne avec la liqueur 0,41 de sucre (pour 4 grammes de levure fraîche).

Cinquième portion. — Celle-ci, le 21 octobre, à 8 heures 1/2 du matin, est filtrée et lavée afin de déterminer le poids de la levure gorgée de glycogène.

| | |
|----------------------------|------------------------|
| Poids de levure | 0 ^{gr} ,647 |
| Sucre réducteur | 6 ^{gr} ,9 0/0 |
| Alcool (en poids). | 2,4 0/0 |

Les trois portions suivantes sont retirées de trois heures en trois heures.

Sixième portion. — A 11 heures 1/2, je prélève 100^{cc}.

| | |
|---------------------------|----------------------|
| Poids de levure | 0 ^{gr} ,689 |
| Sucre | 6,4 0/0 |
| Alcool. | 2,65 0/0 |

Septième portion. — A 2 heures 1/2, la septième portion donne :

| | |
|---------------------------|-----------------------|
| Poids de levure | 0 ^{gr} ,6635 |
| Sucre | 5,6 0/0 |
| Alcool. | 3,0 0/0 |

Huitième portion. — A 5 heures 1/2, nouveau prélèvement :

| | |
|--------------------------|----------------------|
| Poids de levure. | 0 ^{gr} ,657 |
| Sucre | 5,2 0/0 |
| Alcool. | 3,2 0/0 |

Pendant la nuit, le matras qui renferme les deux dernières portions est mis à l'étuve à 28 degrés. Le lendemain, à 8 heures du matin, la quantité de glycogène dans les cellules est toujours considérable.

Neuvième portion. — 100^{cc} prélevés le 22, à 8 heures 1/2, donnent :

| | |
|--------------------------|-----------------------|
| Poids de levure. | 0 ^{gr} ,6555 |
| Sucre | 2,8 0/0 |
| Alcool. | 4,3 0/0 |

La dernière portion est transvasée dans un matras plus petit pour éviter une aération trop abondante, et, par suite, une multiplication cellulaire trop active. Elle restera à 28° jusqu'à ce que le glycogène ait disparu de la majeure partie des cellules.

Le 25 octobre, beaucoup de glycogène persiste dans les cellules. Je filtre pour séparer la levure que je délaye dans 100^{cc} d'eau pure, afin de hâter la consommation des dernières réserves. Dans le liquide filtré, il y a :

| | |
|------------------|---------|
| Alcool | 5,4 0/0 |
| Sucre | 0,2 0/0 |

Le 28 octobre, à 6 heures du soir, je filtre le mélange d'eau et de levure. J'obtiens :

| | |
|--------------------------|----------------------|
| Poids de levure. | 0 ^{gr} ,467 |
| Alcool. | 0,1 0/0 |
| Sucre | 0,0 |

Il ressort de cette expérience que la levure peut accumuler des réserves glycogéniques très importantes.

J'ai obtenu, comme poids de levure privée de réserves par autophagie, les chiffres suivants : 0^{gr},466, 0^{gr},4625 et 0^{gr},467, soit, comme moyenne, 0^{gr},4645. Les 2 grammes de levure originelle qui correspondent à chaque portion, représentaient 0^{gr},4552 de matière sèche. Ce poids de levure ne s'est presque pas accru dans le milieu sucré. Il est possible qu'il y ait eu multiplication cellulaire, mais que l'augmentation de poids qui en est résultée, ait tout simplement compensé la diminution de poids due à l'épuisement de la réserve hydrocarbonée primitive.

Quoi qu'il en soit, la levure n'en a pas moins fait une réserve hydrocarbonée qui, après 17 heures, portait le poids à 0^{gr},689. Cette réserve diminue bientôt et ne disparaît que lorsque la levure est plongée dans l'eau distillée.

La quantité de réserves hydrocarbonées est égale à 0^{gr},689 — 0^{gr},4645 ou 0^{gr},2245.

Cette proportion concorde avec la quantité d'alcool (0^{gr},1) donnée par les essais d'autophagie, ainsi qu'avec la quantité de sucre (0^{gr},205) trouvée dans la levure traitée par l'acide sulfurique. Les variations entre ces chiffres sont inférieures aux limites d'approximation des méthodes d'analyse de l'alcool et du sucre. Nous pouvons donc adopter la différence signalée dans les pesées, et qui correspond au poids de réserve hydrocarbonée, comme très rapprochée de la vérité. Dans ce poids intervient cependant une certaine portion de sucre qui, malgré les lavages répétés des dépôts de levure, est retenue par le protoplasme.

Comparée au poids de la levure, la quantité de glycogène constatée dans l'expérience actuelle en représente $\frac{2245}{6890}$ ou 32,58 0/0. C'est le chiffre le plus élevé que j'aie observé dans la série de ces recherches.

Jusqu'ici, aucune réserve glycogénique aussi forte n'a été signalée chez les champignons, les Myxomycètes, ni même chez les animaux. Cependant, le chiffre que je viens d'indiquer est encore bien inférieur aux quantités de matières amylacées qui serrencontrent dans les graines et surtout dans les tubercules des plantes vertes. Ainsi, on indique : dans la pomme de terre, 20,6 parties d'amidon pour 25 de matière sèche ou 82,4 0/0; dans les grains de blé, 61,8 parties d'amidon pour 86 de matière sèche ou 71,86 0/0.

L'accumulation de glycogène dans la levure complète l'histoire des phénomènes d'autophagie signalés à diverses reprises. Cet hydrate de carbone existe souvent en assez grande abondance dans les levures qui proviennent des brasseries. Ainsi s'expliquent aussi certains résultats observés jadis par M. Pasteur et M. Duclaux. Ces savants avaient observé que lorsqu'on fait usage d'un poids de levure en pâte supérieur à 15 0/0 du sucre à fermenter, on recueille après la fermentation moins de levure qu'on n'en avait mis. La différence correspond aux matières dissoutes qui ont traversé les membranes cellulaires, et surtout aux substances glycogéniques utilisées par la respiration de la levure.

REVUES ET ANALYSES

SUR LA DIGESTION DES MATIÈRES GRASSES

REVUE CRITIQUE.

TH. CASH. Sur la part que prennent l'estomac et le pancréas dans la digestion des corps gras. *Du Bois' Archiv.*, 1880, p. 323. — OGATA. Sur la décomposition des corps gras neutres dans l'estomac vivant. *Du Bois Archiv.*, 1881, p. 315. — FREY. *Id.*, 1881, p. 192. — MULLER. *Zeitschr. f. klin. Medicin*, t. XII, p. 108, 1885. — HEYDEMHAHN. *Pflüger's Archiv. Supp.* au t. 43, p. 88. — EWALD et BOAS. Contributions à la physiologie et à la pathologie de la digestion. *Virchow's Archiv.*, t. 104, p. 302. — DASTRE. Sur le rôle de la bile dans la digestion des matières grasses. *Soc. de biologie*, 1887. — KLEMPERER et SCHEURLEN. Sur le sort des matières grasses dans l'estomac. *Zeitschr. f. klin. Medicin*, t. XV, 1889, p. 370.

Les matières grasses sont en ce moment les seules dont on puisse exposer le mode de digestion, en conservant dans l'esprit quelque quiétude professorale. Les autres substances alimentaires semblent être digérées un peu partout. Si les livres élémentaires leur assignent à chacune un liquide digestif spécial, c'est seulement par des raisons de tradition ou de sentiment, et en négligeant tous les résultats contradictoires de l'opinion adoptée. Avec les corps gras, au contraire, et depuis les recherches classiques de Cl. Bernard, il est démontré qu'elles ne s'émulsionnent que lorsqu'elles viennent au contact du suc pancréatique. Le pancréas est donc l'organe digestif des matières grasses.

J'ai essayé de préciser ces notions en montrant que lorsqu'on supprime l'action des microbes, qui, trop souvent, dans les expériences de digestion naturelle ou artificielle, sont intervenus à l'insu des expérimentateurs, on arrive à localiser beaucoup mieux les points où se digèrent les diverses substances alimentaires. Mais je n'ai pas poussé jusqu'au bout l'étude de cette localisation, parce qu'il m'a paru que la distribution des diastases digestives dans une même espèce ou dans un même individu n'était pas constante, et restait, dans une certaine mesure, fonction du mode d'alimentation.

Relativement aux matières grasses, j'ai fait voir qu'on avait le droit

d'attribuer à des actions tout à fait extérieures au suc pancréatique la saponification observée par Cl. Bernard dans les corps gras émulsionnés par la digestion; que l'émulsion n'était pas du tout un phénomène de l'ordre chimique, mais uniquement de l'ordre physique; et qu'il pouvait ne rien changer à la constitution de la matière grasse émulsionnée, à la condition que le liquide émulsif fût tout à fait sans action sur elle. Il n'y a donc pas, à proprement parler, de digestion des matières grasses par le suc pancréatique, c'est-à-dire d'action analogue à celles que subissent par exemple le saccharose ou l'amidon, qu'on ne peut plus ramener à leur forme initiale quand ils ont été touchés par les liquides digestifs. La matière grasse reste ce qu'elle était : elle est donc non pas digérée, mais élaborée de façon à pouvoir pénétrer dans le protoplasma cellulaire ou circuler facilement dans les canaux étroits des lymphatiques.

On la trouve en effet dans les chylifères sous la forme de fins globules de dimensions très diverses, mais tous très petits, et quelques-uns tout à fait imperceptibles. Cet extrême état de division, et l'intervention des forces capillaires autour de chaque globule masquent totalement les propriétés de la matière grasse. Elle échappe par exemple à ses dissolvants ordinaires; on peut agiter du chyle ou du lait avec de l'éther sans que celui-ci se charge, en remontant à la surface du mélange, de quantités sensibles de matière grasse. On a voulu faire servir ce résultat à démontrer l'existence, autour de chacun des globules gras du lait, d'une enveloppe cellulaire empêchant le contact avec l'éther. Mais alors, il faut accepter la même conclusion pour le chyle, et admettre que chaque globule de la matière grasse, puisée dans l'intestin, s'entoure, au passage dans les villosités, d'une enveloppe cellulaire. Croit-on pouvoir aller jusque-là? Si on y vient, voici un pas encore plus difficile à franchir. Si on agite un instant de l'huile avec 10 fois son volume d'une solution étendue de potasse, on obtient une émulsion qu'on peut rendre très fine, et qui, vis-à-vis de l'éther, se comporte comme le chyle et le lait. De quoi serait faite ici cette enveloppe protectrice? Concluons-donc que la matière grasse est absorbée en nature dans l'intestin, et que l'émulsion n'est que l'acte préparatoire d'une digestion véritable, si tant est que les matières grasses aient besoin d'être digérées, au sens ordinaire du mot.

L'émulsion rend évidemment plus facile, en multipliant beaucoup les surfaces, l'attaque de la matière grasse par le milieu liquide ou gazeux extérieur, et il y a à se demander, à ce point de vue, quelles sont les conditions qui la favorisent. Dans un travail consacré spécialement à l'étude de cette question ¹, j'ai montré qu'elle dépendait de

1. Sur la tension superficielle des liquides. *Ann. de Ch. et de Phys.*, t. XXI, 1871.

circonstances purement physiques, et qu'elle était en particulier indépendante de la réaction acide, neutre, ou alcaline de la matière grasse ou du liquide émulsif. On peut émulsionner un acide gras comme un corps gras neutre, mais en général, l'alcalinité du milieu rend l'émulsion plus facile et plus persistante. En revanche, j'ai fait voir, dans un autre travail¹ que la saponification de la matière grasse, sous l'influence du temps, était beaucoup plus rapide dans les milieux acides que dans les milieux alcalins. En revanche encore, les phénomènes d'oxydation par l'oxygène libre ou l'oxygène dissous sont plus marqués dans les milieux alcalins.

On pourrait tirer de là des inductions générales sur le sort de la matière grasse quand elle a été amenée dans un milieu alcalin comme le sang. Mais c'est là un point que je réserve pour une étude prochaine. Je n'ai rappelé ces diverses particularités que pour les faire servir à l'étude de l'acte préliminaire de la digestion, de l'absorption des matières grasses sur les divers points du canal digestif, et des travaux dont cette question a été l'objet. Nous allons voir que les conclusions de la plupart de ces travaux se trouvent frappées de discrédit, pour avoir négligé ces notions fondamentales, qui sont restées peu connues. C'est une bien fâcheuse barrière que la différence des langues. C'en est une non moins fâcheuse que la multiplicité des journaux non spécialisés pour un certain ordre d'études. On ne peut pas les avoir tous. On ne sait pas toujours tout ce qui se passe chez soi; on est encore bien moins au courant de ce qui se publie au delà de la frontière. Il y a des travaux qui passent inaperçus et qu'on recommence de bonne foi. Dans l'espèce, MM. *Frey* et *Muller* ont retrouvé quelques-uns de mes résultats, à moins que ce ne soit moi qui aie retrouvé ceux de MM. *Muller* ou *Frey*, ou de quelque autre savant. La chose est peu importante: je n'ai jamais fait de réclamation de priorité, et n'ai jamais répondu à aucune. Le seul point que je veuille prouver, c'est qu'il résulte de cette situation un grand gaspillage de temps et de forces.

C'est surtout de l'Institut physiologique de Leipzig que sont sorties les études sur l'action des diverses parties du canal digestif sur les matières grasses. Envisageons d'abord l'estomac. Comment se comporte-t-il avec les corps gras qui le traversent?

Nous pouvons prévoir, avec ce que nous savons, qu'en présence du contenu généralement acide de cet organe, la matière grasse pourra éprouver un commencement de saponification, et que, si elle est neutre, elle y donnera des acides gras. C'est en effet ce que *Cash* a constaté.

1. Sur la durée de la vie chez les germes de microbes, *Ann. de Ch. et de Phys.*, 6^e s., t. V, 1885.

La muqueuse broyée d'un estomac de chien, laissée pendant quatre heures en contact avec son poids environ de matière grasse neutre, y a produit une proportion d'acides gras comprise entre 1 et 2 pour 100 du poids de la matière grasse, et qui augmentait quand on acidulait le mélange par l'acide chlorhydrique. *Ogata* a retrouvé les mêmes résultats sur l'animal vivant. En injectant de l'oléine pure, à travers une fistule, dans l'estomac d'un chien, il a retrouvé, au bout de quelques heures, de l'acide oléique. Enfin, MM. *Klemperer* et *Scheurlen* ont précisé le phénomène par une mesure quantitative. En injectant, par la méthode que nous indiquerons tout à l'heure, de l'oléine pure dans l'estomac d'un chien, ils ont trouvé à l'état libre, après 3 heures de séjour, une quantité d'acide oléique représentant 1,23 pour 100 de celui que contenait l'oléine ingérée. Cette saponification si médiocre suffirait, si elle se faisait en liquide alcalin, à assurer l'émulsion, mais en milieu acide, la matière grasse ne se divise que grossièrement, et il reste à savoir si, bien qu'il n'y ait pas d'émulsion, la muqueuse de l'estomac peut absorber les corps gras.

Il n'est pas, en effet, démontré que l'émulsion soit une condition nécessaire de l'absorption et doive la précéder. *Will* a montré que dans l'intestin de la grenouille les corps gras ne sont pas émulsionnés, mais saponifiés et rendus ainsi solubles dans l'eau. D'un autre côté, de nombreux histologistes, parmi lesquels *Heidenhain*, admettent que la division des gouttelettes du chyle ne se produit ni dans l'intestin, ni dans l'épithélium ou dans le parenchyme des villosités, mais au moment de la pénétration dans les chylofères. Peut-être y aurait-il quelque chose à dire à cette double conclusion, mais tant qu'elle n'a pas été contredite, elle témoigne que la question de l'absorption stomacale de la matière grasse n'est pas résolue, et a besoin d'être étudiée expérimentalement.

C'est ce qu'ont fait MM. *Ewald* et *Boas*, mais par des moyens trop imparfaits qui les ont empêchés d'arriver à aucune conclusion. Ils faisaient ingérer à des patients un mélange d'huile et d'amidon cuit, qu'ils allaient rechercher après quelques heures au moyen de l'aspiration stomacale, et ils constataient des pertes de matière grasse que rien ne les autorisait à attribuer à une absorption.

MM. *Klemperer* et *Scheurlen* se sont préoccupés, avec juste raison, de fermer complètement, au pylore et au cardia, l'estomac sur lequel ils voulaient opérer. Les chiens supportent très bien l'opération. L'animal, soumis à un jeûne de 24 heures, subit d'abord un lavage stomacal à l'eau chaude. On l'endort, on fait une laparotomie et on lie l'estomac 1 à 2 centimètres au-dessous du pylore. A l'aide d'une seringue en communication avec une sonde, on fait pénétrer une certaine quantité de corps gras. Une pesée de tout l'appareil, faite avant et

après l'injection, donne le poids de la matière introduite. On enlève la sonde, on fait la ligature du cardia, en respectant les gros vaisseaux, de façon à ce que l'estomac conserve à peu près son état physiologique. Au bout de 3 à 4 heures on tue l'animal par le chloroforme, on sépare son estomac, dont on introduit le contenu, au moyen d'un large entonnoir, dans un petit entonnoir à séparation, on le lave avec de l'eau chaude qu'on ajoute au reste. Après un repos de 24 heures, on trouve l'huile à la surface du liquide. On fait écouler ce dernier, on agite l'huile avec de nouvelle eau chaude, qu'on laisse se déposer et qu'on évacue comme la première. On reprend l'huile par l'éther, qu'on évapore, et on pèse.

En opérant ainsi avec 20 ou 25 grammes d'acide oléique ou d'oléine, MM. Klemperer et Scheurlen n'ont jamais rencontré, entre le poids de la matière introduite, et celui de la matière retrouvée dans l'estomac, de différences supérieures à un ou deux décigrammes, comprises par conséquent dans les limites des erreurs d'une expérience qu'on pouvait même ne pas croire susceptible d'une pareille précision. Cependant l'estomac de l'animal semblait bien dans les conditions normales d'absorption. Le chien allait et venait sans donner de signes sensibles de souffrance. Ce travail bien fait conclut donc que ni l'acide oléique ni l'oléine ne sont absorbés par la muqueuse stomacale en quantités sensibles.

Cette insouciance de l'estomac vis-à-vis de l'acide oléique repousse au second plan la question de la saponification des corps gras neutres dans l'estomac, qui, du reste, comme nous l'avons vu plus haut, reste toujours très bornée. Mais, si faible qu'elle soit, MM. Klemperer et Scheurlen ont cherché à en trouver l'origine et se sont demandé quel rôle pouvaient bien y jouer les bactéries.

J'ai montré, en 1875, qu'elles étaient des agents actifs de décomposition et de saponification des matières grasses au contact desquelles elles vivaient. Il se peut que dans l'estomac, où les microbes ne jouent qu'un rôle effacé, leur action sur les matières grasses soit des plus médiocres. Il y avait, dans tous les cas, un moyen simple et sûr de le savoir. MM. Klemperer et Scheurlen n'avaient qu'à prendre le liquide de lavage stomacal de leur chien, à le neutraliser s'ils voulaient se mettre à l'abri de l'influence concomitante de l'acidité, à le mettre en contact avec de la matière grasse aussi grossièrement divisée qu'elle l'est d'ordinaire dans la pâte chymeuse, et à voir ce qu'il advenait au bout du temps normal de séjour des aliments dans l'estomac. On aurait vu ainsi en action les microbes de l'estomac du chien en expérience, les mêmes en qualité, en quantité un peu moins grande puisqu'on n'enlève pas ainsi ceux qui restent adhérents à la muqueuse, mais on aurait pu se faire quand même une idée de l'importance de l'action des microbes sur le phénomène.

La méthode mise en œuvre par MM. Klemperer et Scheurlen me semble beaucoup inférieure, et on a peine à comprendre que des observateurs qui semblent aussi exercés aient pu s'y arrêter. Ils mélangent de l'oléine avec une gouttelette du résidu de la filtration du contenu d'un estomac, et exposent le tout à l'étuve pendant 3 heures. Ou bien encore ils ensemencent du lait de la même façon. Quand ils opèrent sur l'oléine, ils oublient que cette substance n'est pas fermentescible et ne peut être atteinte que par voie latérale, au moyen des produits ou des réactions que les microbes déterminent dans le milieu environnant ; mais il faut qu'il y ait un milieu. Il y en a un dans l'estomac, c'est la masse alimentaire ; il n'y en a pas dans les expériences de MM. Klemperer et Scheurlen. Il est vrai qu'ils en créent un dans leur second mode d'expérience, en ensemençant dans le lait, mais, avec trois heures de contact et un ensemencement aussi peu abondant, on ne saurait comparer les résultats à ceux qui se produisent dans l'estomac d'un animal qui digère.

MM. Klemperer et Scheurlen constatent ainsi qu'en 3 heures il n'y a tout au plus que $1/2$ 0/0 de l'acide gras de la matière grasse mis en liberté, et comme c'est environ trois fois moins que ce qu'ils ont trouvé dans l'expérimentation sur l'animal vivant, ils concluent à une action saponifiante de la muqueuse seule. Il est clair que cette conclusion repose sur une base expérimentale bien étroite, et comme elle néglige en outre l'action de l'air et celle de l'acidité, pour tout rapporter à la muqueuse, on voit qu'elle est en outre tout à fait flottante et indécise.

MM. Klemperer et Scheurlen terminent par quelques expériences sur l'homme, qui témoignent qu'en ingérant de l'huile dans un estomac humain, il y a au bout de 2 heures 1 à 2 0/0 d'acides gras, et qu'après un plus long séjour le chiffre croît, et peut s'élever à 6 0/0 dans les fermentations actives d'estomacs dilatés. L'interprétation qu'ils ont adoptée semblerait devoir faire attribuer à la muqueuse cette saponification plus énergique que celle de leurs expériences sur le chien. Il nous paraît qu'il est plus prudent de mettre au contraire au premier plan l'action des microbes ; mais si MM. Klemperer et Scheurlen, qui ont fait le travail sur ce sujet, n'affirment pas leur conclusion, j'ai encore bien moins de raison d'affirmer la mienne. Je ne me crois que le droit de la donner comme aussi probable que l'autre.

On peut, je crois, conclure de tout ce qui précède que les matières grasses traversent l'estomac à peu près inaltérées. Elles ne font pas un long chemin au delà sans rencontrer le suc pancréatique, chargé, non de les digérer, car l'emploi de ce mot défectueux est à rejeter, mais de les émulsionner. Son rôle sous ce rapport paraissait avoir été bien fixé par les expériences de Cl. Bernard : il était de premier rang. Une récente et curieuse expérience de M. Dastre semble le mettre au niveau de la bile.

On sait que chez le lapin, dont le canal pancréatique s'ouvre dans l'intestin à 30 ou 40 centimètres au-dessous du canal cholédoque, les chylifères ne deviennent lactescents qu'au delà du canal de Wirsung, c'est-à-dire lorsque, imprégnés de bile, ils ont subi l'action du suc pancréatique. La bile seule est donc impuissante à émulsionner les matières grasses, et c'est le suc pancréatique qui est chargé de ce soin. L'expérience de M. Dastre montre que le suc pancréatique seul est tout aussi impuissant que la bile, et qu'il faut le mélange des deux liquides. Cette expérience, qui est la contre-partie de l'expérience classique de Cl. Bernard, se fait en réalisant artificiellement sur un chien, au moyen d'une fistule cholécysto-intestinale, la contre-partie de la disposition naturelle du lapin, c'est-à-dire en faisant déboucher le conduit biliaire dans l'intestin grêle fort au delà du point où vient s'ouvrir le canal pancréatique. Dans tout l'intervalle, les aliments gras ne sont pas émulsionnés, et les chylifères ne sont pas lactescents. L'effet est au contraire très rapide aussitôt que la bile et le suc pancréatique ont superposé leur action. D'où la conclusion qu'ils sont nécessaires tous deux. Mais je ne saurais aller, et je ne crois pas non plus que ce soit la pensée de M. Dastre, jusqu'à admettre qu'ils s'équivalent dans l'action, et que le suc pancréatique doive partager avec la bile son rôle d'agent émulsif des matières grasses. Avec la bile, employée en quelque quantité que ce soit, on ne fait jamais d'émulsion stable; avec le suc pancréatique, au contraire, même en quantité médiocre, l'émulsion est immédiate et persistante. Il a donc un rôle à part.

A quoi tient ce rôle? Pourquoi ne se manifeste-t-il que sur les aliments mélangés de bile? C'est une question différente de la précédente et qui doit être traitée à part. On peut penser par exemple que l'excès d'acidité que la pâte alimentaire apporte de l'estomac a besoin d'être saturé, au moins en partie, pour que l'émulsion se produise, et que la bile aide le suc pancréatique dans cette neutralisation. Il est certain que l'émulsion se fait beaucoup plus facilement dans un liquide alcalin que dans un liquide acide. Peut-être y a-t-il d'autres influences en jeu. Il y en a de très délicates qui peuvent jouer un rôle. On émulsionne facilement, par exemple, un peu d'huile avec de l'eau distillée légèrement alcaline. Si on prend de l'eau ordinaire, ou de l'eau distillée à laquelle on a ajouté une goutte de chlorure de calcium, et qu'on a ensuite alcalinisée par la potasse, l'émulsion, qui se complique de la formation d'un savon de chaux, est beaucoup moins facile et moins stable. La bile, avec ses sels de soude à acides faibles, pourrait peut-être éliminer l'influence fâcheuse des sels de chaux du chyme. Il faut donc avoir l'œil bien ouvert quand il s'agit d'étudier ce sujet délicat, qui n'est pas épuisé, et promet encore d'intéressantes découvertes.

Dx.

SUR LE RÔLE ET LE SORT DU STAPHYLOCOCCUS AUREUS
DANS LA PEAU.

REVUE CRITIQUE.

HOHNFELDT. Sur l'histogénèse des abcès du tissu conjonctif, provoqués par l'invasion du Staphylococcus. *Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie*, publiés par Ziegler et Nauwerck, vol. III, fasc. IV, 1888, p. 345. — RIBBERT. Sur la marche de l'inflammation, provoquée dans la peau des lapins par le Staphylococcus aureus, *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1889, n. 6.

D'après les recherches de M. Hohnfeldt, faites dans le laboratoire et sous la direction de M. Baumgarten, le staphylococcus, aussitôt après son introduction dans le tissu sous-cutané des lapins, provoque des lésions marquées, qui se manifestent déjà, quatre heures après le début de l'expérience, sous forme d'une agglomération de leucocytes, dont plusieurs contiennent déjà des staphylococcus. Parallèlement à la multiplication de ces derniers, le nombre de leucocytes augmente considérablement, et il se produit une infiltration leucocytaire qui se transforme ensuite en véritable abcès cutané.

Les cellules qui constituent cet abcès sont pour la plupart des leucocytes multinucléés, avec des nucléus fortement colorés par les couleurs d'aniline, et proviennent indubitablement des leucocytes du sang, immigrés au lieu d'invasion. Beaucoup de ces cellules contiennent des quantités considérables de staphylocoques, qui se colorent aussi bien que ceux qui se trouvent hors des leucocytes. M. Hohnfeldt ne doute pas que les microbes mentionnés n'aient été englobés ou bien ne soient entrés spontanément dans l'intérieur des leucocytes dans un état de vitalité parfaite. Il admet aussi que ces staphylocoques intracellulaires parviennent à tuer les leucocytes, dont il ne reste bientôt plus qu'une espèce de résidu granuleux.

En suivant le développement de l'abcès, on peut constater qu'il est rempli par des grandes quantités de staphylocoques libres, isolés ou réunis en groupes, et par des cellules migratrices plus ou moins dégénérées et réduites en granulations.

Dans sa partie périphérique, l'abcès est entouré d'une capsule limitante, qui ne se forme, du reste, qu'assez tard (vers le dixième jour après l'infection). On aperçoit alors une division karyokynétique dans

les noyaux des cellules du tissu conjonctif et des cellules épithélioïdes nouvellement formées, ce qui annonce le caractère purement réparateur de ce phénomène.

Comme l'abcès, arrivant à la périphérie de la peau, s'ouvre généralement à l'extérieur, l'organisme se débarrasse en même temps des staphylocoques pathogènes ainsi que des cellules mortes et plus ou moins décomposées. M. *Hohnfeldt* n'attribue, dans la destruction des staphylococcus, aucun rôle aux cellules mobiles et pense, au contraire, que ces phagocytes présentent un milieu très favorable à la vie et la multiplication des microbes pyogènes.

En résumé, M. *Hohnfeldt* confirme l'opinion de son maître, M. *Baumgarten*, que la théorie des phagocytes se trouve en désaccord avec les phénomènes pathologiques de la formation des abcès. Tel n'est pas l'avis de M. *Ribbert* qui, de son côté, a entrepris des recherches approfondies sur le même sujet.

Il a suivi d'abord la marche de l'infection en introduisant de petites quantités de staphylocoques dans la peau des lapins. Tandis que M. *Hohnfeldt* injectait un demi-centimètre cube d'une émulsion épaisse, M. *Ribbert* se bornait à introduire, dans une coupure de la peau longue de quelques millimètres, un scalpel mouillé d'une émulsion de staphylocoques. A la suite de cette lésion il se formait quelquefois des petits abcès, mais dans la plupart des cas l'affection n'allait pas au delà d'une hyperémie légère et d'une tuméfaction autour de la plaie. L'infection ainsi pratiquée avec des quantités minimales de staphylocoques était toujours suivie d'une guérison, complète au bout de quelques jours, et accomplie notamment à l'aide des phagocytes. Ces derniers, sous forme de leucocytes à noyau multiple et de cellules fixes du tissu conjonctif, s'agglomèrent au lieu d'invasion déjà dès le premier jour et englobent tous les staphylocoques qui laissent bientôt apercevoir des signes évidents de dégénérescence : ils se colorent d'une manière incomplète et montrent des dimensions inégales. Autour de la partie enflammée, et plus tard dans cette partie même, on observe le phénomène kariokynétique réparateur sur un grand nombre de noyaux des cellules du tissu conjonctif et épithélial.

L'introduction de plus grandes quantités de staphylocoques est suivie, d'après M. *Ribbert*, de phénomènes d'un autre genre. L'émigration inflammatoire des leucocytes, ainsi que la production d'abcès, deviennent beaucoup plus considérables, et un grand nombre de phagocytes périssent sous l'influence des microbes. Ces derniers, rassemblés en groupes plus ou moins grands, se trouvent pour la plupart en dehors des petits leucocytes multinucléaires, présentent des signes évidents de mort et deviennent la proie des grandes cellules macrophages (provenant des cellules fixes du tissu conjonctif).

Dans ces cas *M. Ribbert* attribue un rôle restreint aux phagocytes isolés, mais il admet que l'ensemble des leucocytes immigrés forme autour des masses de staphylocoques une barrière infranchissable. Les microbes agglomérés périssent alors, non sous l'influence directe des phagocytes, mais bien à cause d'une action indirecte, notamment à la suite du manque d'oxygène et de nourriture, ainsi que de la présence en quantité considérable des produits toxiques de ces mêmes bactéries.

M. Ribbert exprime lui-même l'avis qu'entre la phagocytose proprement dite et l'enveloppement des masses microbiques par un manteau leucocytaire, il se trouve tous les passages intermédiaires, de sorte que les deux phénomènes ne peuvent être rigoureusement séparés. En m'associant à ce point de vue, je saisis l'occasion de rappeler aux lecteurs qui s'intéresseraient à la question des phagocytes, que dans mon article d'introduction (publié dans le recueil de *M. Clauss* en 1883, t. V, p. 156), j'ai fait connaître les deux modifications du processus indiquées plus haut. « Le rôle des cellules amiboïdes mésodermiques, — disais-je, — consiste à dévorer les parties de l'organisme, devenues inutiles, ainsi que les corps étrangers, ou bien, dans les cas où cette solution n'est pas possible, au moins à les envelopper et à les retenir sur place. »

À la fin de son mémoire, *M. Ribbert* aborde la question de l'influence des parties liquides de l'organisme sur les staphylocoques. Après l'introduction de ces microbes dans des parties de la peau enflammées par l'action de l'iode, les staphylocoques se multiplient dans le liquide œdémateux des tissus avec une telle abondance que ni les phagocytes isolés, ni les leucocytes réunis en masse ne peuvent former un obstacle sérieux contre leur invasion. Les staphylocoques pullulent d'une manière surprenante, et, ne trouvant point de résistance suffisante, provoquent la nécrose des parties envahies, mais ils ne sont pas cependant en état de franchir la barrière formée à la limite du tissu sain par les leucocytes arrivés sur place. On voit bien que dans ces cas les liquides accumulés par l'inflammation présentent des conditions très favorables à l'accroissement du microbe envahisseur, et que la guérison n'est possible qu'à l'aide de la formation d'une couche épaisse de leucocytes et de la desquamation de la partie nécrosée.

D'accord avec *M. Hohnfeldt* sur la provenance des cellules du pus et sur le rôle surtout réparateur des cellules fixes du tissu conjonctif, *M. Ribbert* diffère totalement, ainsi que nous l'avons vu, de l'élève de *M. Baumgarten*, au sujet du sort des staphylocoques introduits dans la peau des lapins.

E. METCHNIKOFF.

J. SOUDAKEWITCH. Les fibres élastiques et les cellules géantes. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin*, t. 115, 1889, p. 264.

Le travail intéressant de M. Soudakewitch contribue à mettre en lumière le rôle des cellules géantes dans certaines *néoplasies* cutanées, telles que le clou des Sartes et le lupus. Dans les deux maladies, les cellules géantes contiennent souvent des fibres élastiques à différents états de dissolution, ce qui peut être attribué à l'influence digestive de la cellule et ressemble beaucoup aux transformations des fibres pendant leur digestion artificielle.

Englobée par la cellule géante, la fibre élastique perd plus ou moins vite sa capacité de prendre la coloration par l'hématoxyline (d'après les méthodes de Ranvier et de Herrheimer), elle se gonfle et acquiert des contours crénelés. Peu à peu elle se transforme en un corps stratifié, qui reste logé dans une vacuole plus ou moins grande. Quelquefois la fibre, encore bien colorée, se divise en petits segments, tout à fait comme cela s'observe sous l'action de la putréfaction, de la digestion artificielle ou de certains réactifs chimiques. L'influence des cellules géantes dans la production de tous ces changements des fibres élastiques ressort avec une évidence frappante des cas où ces transformations ne s'observent que dans la partie des fibres englobée par la cellule, tandis que leur partie libre retient la coloration et conserve toutes ses autres propriétés normales.

De ces observations, de l'exactitude parfaite desquelles j'ai pu me convaincre en observant à plusieurs reprises les belles préparations de M. Soudakewitch, il s'ensuit que les cellules géantes des deux maladies citées sont réellement aptes à englober des corps solides et à digérer une substance aussi résistante que celle des fibres élastiques. En terminant son article, M. Soudakewitch insiste sur l'interprétation des faits que nous venons de relater, mais il s'abstient de se prononcer sur la signification du phénomène de la digestion des fibres élastiques par les cellules géantes. Peut-être que ces dernières, servant comme moyen de défense à l'organisme contre les microbes de la maladie des Sartes et du lupus, et par cela aptes à développer une grande énergie digestive, détruisent aussi les éléments organiques incapables de résister à leur agression¹. Il est très probable que ce rôle destructif des phagocytes

1. Il faut considérer comme un *lapsus calami* l'expression de M. Soudakewitch sur la « lutte mutuelle entre les cellules géantes et les fibres élastiques », les fibres élastiques n'étant point capables de « lutter » comme un élément vivant tel qu'une cellule ou un être indépendant.

s'opère dans bien des cas dans la pathologie. Ainsi plusieurs faits indiquent que la cirrhose du foie est due à la destruction par les phagocytes des cellules hépatiques affaiblies, et que des phénomènes analogues se passent aussi lors du développement des scléroses dans le système nerveux.

METCHNIKOFF.

D^r WYSSOKOWICZ. Sur les inoculations préventives du charbon en Russie. *Fortschritte der Medicin*, n° 1, janvier 1889.

La note que M. Wyssokowicz publie sous ce titre résume les expériences du regretté professeur Cienkowsky sur les inoculations préventives du charbon. Depuis l'année 1883, après un voyage qu'il fit à Paris pour prendre connaissance des procédés d'atténuation du charbon découverts au laboratoire de M. Pasteur, M. Cienkowsky s'est appliqué à préparer des vaccins charbonneux adaptés aux races des moutons de la Russie. M. Wyssokowicz nous dit qu'il y est parvenu après beaucoup de difficultés. Les inoculations préventives faites par M. Cienkowsky, depuis l'année 1885 jusqu'à 1888 inclusivement, ont porté sur 20,310 moutons; la perte moyenne après les deux vaccinations a été de 0,87 0/0. Sur un troupeau de 11,000 moutons, la mortalité qui était en temps ordinaire de 8,5 à 10,6 0/0 est tombée à 0,13 0/0 après la vaccination. Dans une expérience, 13 mois après l'inoculation préventive, 18 brebis sur 20 résistaient à l'action du charbon virulent.

Ces résultats sont tout à fait satisfaisants. Ils prouvent une fois de plus l'efficacité et l'innocuité de la vaccination charbonneuse et sont de nature à faire entrer les inoculations préventives dans la pratique agricole en Russie, M. Cienkowsky a donc rendu un service signalé aux agriculteurs de son pays en les rendant témoins de semblables expériences.

Deux points, dans l'œuvre de M. Cienkowsky, paraissent particulièrement nouveaux et importants à M. Wyssokowicz. C'est d'abord la manière dont le professeur de Charkow a choisi ses virus atténués, virus qui, selon M. Wyssokowicz, « se distinguent considérablement des vaccins français ». Le premier vaccin adopté en Russie tue toutes les souris et un tiers seulement des spermophiles auxquels on l'inocule; le second vaccin fait périr les trois quarts des spermophiles, la moitié des lapins et de 1 à 2 brebis sur 10 qui le reçoivent d'emblée sous la peau.

Nous ne reconnaissons dans cette manière de graduer les vaccins qu'une chose nouvelle, c'est l'emploi du spermophile à la place du cobaye. En effet, en France, où l'on ne connaît pas le spermophile, on se sert

d'un premier vaccin qui tue toutes les souris et ne fait pas mourir les cobayes adultes, et d'un second vaccin qui tue les cobayes et environ la moitié des lapins. Nous ne savons pas si le spermophile est un animal préférable au cobaye pour l'épreuve des vaccins, mais nous voyons que le procédé que vante M. Wyssokowicz est calqué sur le procédé français.

Le second point, qui paraît à M. Wyssokowicz être pour beaucoup dans les succès que M. Cienkowsky a obtenus, est l'emploi de la glycérine pour la conservation des vaccins charbonneux. « Pour conserver les vaccins, Cienkowsky employa comme le meilleur moyen, l'addition de un volume de glycérine purifiée à 30° à deux volumes de culture. Cette addition de glycérine permet de conserver les cultures pendant longtemps sans qu'elles changent de virulence. » Il y a un moyen de conservation des vaccins encore plus simple que celui qui emploie la glycérine, c'est celui, usité à Paris, qui consiste à ne rien leur ajouter du tout, mais à conserver les spores des virus atténués en tubes clos, à l'abri de l'air et de la lumière. Nous pensons que ce procédé est encore plus sûr que celui à la glycérine, qui ne permet pas de conserver sans changements les virus atténués pendant des années.

Pour nous, ce qui distinguerait véritablement les vaccins du charbon obtenus en Russie de ceux préparés en France, c'est la propriété que M. Wyssokowicz fait connaître dans les lignes suivantes : « Des expériences sur une grande quantité de spermophiles et de souris ont démontré que le premier vaccin aussi bien que le second n'étaient pas modifiés dans leur virulence malgré de nombreux passages d'un animal à un autre. » C'est là un fait nouveau, en si complète contradiction avec ce que l'on sait sur le renforcement de la virulence par les passages successifs d'un virus à travers un grand nombre d'animaux de la même espèce, qu'il faut en laisser toute la responsabilité à M. Wyssokowicz, d'autant plus qu'un peu plus loin il écrit que les vaccins employés « étaient non des cultures puisées directement dans des vases, mais des cultures passées par une série de spermophiles afin de leur donner une virulence déterminée. Une culture dans du bouillon,ensemencé avec le sang des animaux morts, constituait le vaccin employé ».

Il nous semble qu'il y a contradiction entre ce passage et celui que nous avons cité précédemment. Pourquoi, en effet, faire des passages à travers une série de spermophiles, si l'on a reconnu, tout d'abord, que la virulence des vaccins n'est pas modifiée par ces passages ?

Nous ne voyons pas non plus quel avantage pratique il y a à inoculer chaque fois un spermophile pour prendre dans son sang la semence nécessaire à une nouvelle culture. Il nous paraît plus commode de conserver les semences en tubes clos comme nous l'avons dit plus haut.

Après avoir rapporté que sur 34 chevaux vaccinés par M. Cienkowsky aucun n'avait éprouvé de malaise, M. Wyssokowicz ajoute : « Ce résultat des vaccinations russes est opposé à celui des vaccinations françaises, car en France, d'après la note de M. Chamberland, on ne vaccine plus de chevaux à cause des maladies survenues à la suite des inoculations. » Remarquons d'abord que le nombre de 34 chevaux vaccinés est beaucoup trop faible pour que l'on puisse tirer une conclusion sur la valeur pratique des vaccins employés sur ces animaux.

En effet, pendant l'année 1886, 129 chevaux ou mulets furent inoculés en France sans aucun accident. Si l'on s'en tenait à ce chiffre, près de quatre fois plus fort que celui cité par M. Wyssokowicz, on pourrait dire que la vaccination des chevaux ne présente aucun inconvénient. Cependant, dans une pratique plus étendue, on a observé parfois des œdèmes considérables après les vaccinations. Les vaccins français ne sont pas cependant aussi dangereux pour les chevaux qu'on pourrait le croire à la lecture de la phrase de M. Wyssokowicz ; sur 2,769 chevaux ou mulets inoculés en France, dans les années 1882, 1883, 1884, 1885, 1886, la mortalité, tant après les vaccinations que dans l'année qui a suivi, a été de 23 animaux, soit de 0,80/0. De plus, il n'est pas exact que M. Chamberland ait écrit « que l'on ne vaccine plus les chevaux à cause des maladies qui suivent les vaccinations. M. Chamberland ¹ écrit : « Après avoir observé chez les chevaux plusieurs œdèmes très volumineux, nous avons recommandé, vu la faible mortalité qui existe en France sur les chevaux, de ne les vacciner que dans les cas urgents, par exemple lorsqu'une épidémie charbonneuse s'est déclarée dans une ferme ou une localité quelconque. » Le texte de M. Chamberland n'est pas tout à fait le même que celui que lui prête M. Wyssokowicz.

Puisque nous en sommes à la vaccination des chevaux contre le charbon, disons, que les méthodes du laboratoire de M. Pasteur permettent de préparer des vaccins efficaces et inoffensifs pour les animaux. Cela a été réalisé pour plusieurs expériences, mais, à cause de la rareté du charbon chez les chevaux, on n'a pas conservé dans la pratique ces virus spéciaux, et on a inoculé les équidés avec les vaccins employés pour les moutons et les bœufs et qui ont produit parfois des œdèmes.

De la note de M. Wyssokowicz il ressort que les efforts de M. Cienkowsky ont été couronnés de succès, et que le professeur de Charkow a réussi à préparer des vaccins charbonneux d'un emploi pratique. C'est là un résultat que M. Wyssokowicz a bien fait de

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 25 juin 1887.

signaler à l'attention. Mais il nous semble qu'il aurait mieux servi l'œuvre de M. Cienkowski en l'exposant simplement, sans déprécier les méthodes du laboratoire de M. Pasteur qui sont les sources où M. Cienkowski a puisé, et qui depuis 1884 ont fait leurs preuves non pas sur quelques milliers, mais sur des centaines de milliers d'animaux. D'ailleurs, ce que M. Wyssokowicz loue le plus dans les travaux qu'il rapporte ne nous paraît pas toujours ce qui mérite le plus d'être loué.

D^r Roux.

J. ROSENTHAL. Recherches sur la présence des microorganismes dans les tumeurs, particulièrement dans les carcinomes. *Zeitschr. f. Hygiene*. t. V. p. 161.

Nous avons déjà (V. t. II, p. 84), résumé ce qu'on savait l'an dernier, à pareille époque, sur le bacille du cancer, et exprimé au sujet des résultats du travail de M. Scheurlen des doutes qui à ce moment pouvaient paraître audacieux, mais qui ont été légitimés par toutes les constatations faites depuis. On admet assez généralement aujourd'hui que le microbe de Scheurlen n'est pas la cause du cancer, mais il reste à comprendre comment ce savant avait pu trouver aussi souvent, soit au microscope, soit dans ses ensemencements, des microbes dans les tissus cancéreux. Y avait-il là de grosses fautes de technique? ou bien l'observateur était-il excusable de s'être trompé?

Le travail de M. Rosenthal, fait sous la direction de M. Baumgarten, répond en partie à cette question, en montrant que des tumeurs malignes, et même des tissus sains, étudiés avec toutes les précautions antiseptiques et la technique la plus rigoureuse, peuvent parfois contenir des microbes. Voici en effet les divers points qui ressortent de ce travail.

On peut trouver des organismes dans le tissu d'une mamelle saine. Ceux-ci y pénètrent d'autant plus facilement de l'extérieur que le tissu est devenu plus lâche à la suite d'une irritation quelconque.

Le bacille de Scheurlen n'est pas spécial aux carcinomes; on le trouve dans les néoformations les plus variées.

Par aucune des méthodes bactériologiques connues jusqu'ici, on ne le trouve dans tous les carcinomes.

On peut constater sûrement, par la méthode des cultures sur plaques, qu'en outre de ce bacille, le carcinome contient encore d'autres microbes.

L'opinion de Senger, et d'autres auteurs, qui attribuent le bacille décrit par Scheurlen à l'introduction d'une impureté venue de l'extérieur, est contredite par l'expérience des cultures sur plaques, qui démontre que pendant la vie il y a déjà des bactéries dans les néoformations. Ce bacille semble, du reste, fort rare dans l'air.

On trouve sur la peau des saprophytes qui ont toutes les propriétés du bacille de Scheurlen (prolifération misérable sur la gélatine, abondante sur le sérum, la gélose, la pomme de terre; formation d'une pellicule superficielle caractéristique, etc.); ce saprophyte a été déjà décrit par Bizzozero et Bordoni Uffreduzzi sous le nom de *Leptothrix* ou de *Bacillus epidermidis*.

Ce qui conduit encore à identifier ce bacille avec celui de Scheurlen, c'est que l'on ne trouve ce dernier que dans les néoformations voisines de la peau, et qu'on ne l'a jamais rencontré dans les carcinomes de l'estomac, du foie, du diaphragme et du rectum.

Si on ajoute à cela que les tentatives d'inoculation du bacille sont restées douteuses entre les mains de Scheurlen, et ont échoué entre celles de Senger, on conclura que le bacille de Scheurlen n'a pas le rôle pathogène qui lui a été attribué, et n'est pas la cause du cancer.

Telles sont les conclusions de M. Rosenthal. Elles sont tellement nettes et précises qu'on est tenté de les adopter sans examen. Mais d'un autre côté, elles sont aussi tellement en désaccord avec ce que l'on sait, ou ce que l'on croit savoir, qu'on est tenté de leur témoigner de la méfiance. Comment se fait cette pénétration des microbes au travers de la peau, lorsque, comme dans la plupart des expériences de M. Rosenthal, celle-ci était restée saine? et puis le nombre de ces expériences n'est pas grand! et les erreurs y sont si faciles! Le lecteur, dérouté par l'imprévu des résultats, et n'osant ni croire, ni ne pas croire, aimerait à trouver dans ces cas des expériences de contrôle, c'est-à-dire par exemple, dans le mémoire de M. Rosenthal, des expériences dans lesquelles on auraitensemencé, comparativement avec la tumeur, avec les mêmes précautions, des fragments de tissus sains, du même animal, et cela sans résultat. Faute de cela, il est obligé, comme nous le faisons ici, de marquer les curieux résultats de M. Rosenthal d'un point d'interrogation que de nouveaux travaux feront peut-être disparaître.

Dx.

BUCHNER. Sur la question de la présence des bactéries dans les tissus normaux des plantes. *Munch. med. Wochensch.*, 1888, p. 906.

Dans un récent article (V. t. II de ces *Annales*, p. 621), sur un travail de M. Bernheim relatif à l'existence des microbes dans le tissu normal des végétaux, nous avons fait quelques réserves, non au sujet de la technique suivie par ce savant, qui théoriquement est irréprochable, mais au sujet de sa façon de raisonner et de travailler, qui prêtait, croyons-nous, le flanc à la critique. Le récent travail de M. Buchner nous paraît démontrer que nous avons eu raison, car en répétant les expériences de M. Bernheim, ce savant n'a obtenu que des

résultats négatifs, et constamment, sauf dans quelques cas sporadiques, les ensemencements de fragments de végétaux et de graines sont restés stériles. Mais ce travail relève, en outre, une erreur d'interprétation qui a son importance, car elle a sans doute sévi ailleurs.

M. Bernheim avait été conduit à localiser dans l'endosperme les bactéries des graines, parce que chacun des fragments de cet endosperme, introduit dans la gélatine nutritive, s'y entourait, au bout de quelques heures, d'une auréole blanche et transparente, à contours mal limités, qui s'épaississait peu à peu en liquéfiant la gélatine. M. Bernheim n'avait pas hésité à la croire formée de bactéries.

M. Buchner a bien vu l'auréole se former, mais n'a jamais constaté qu'elle augmentât de volume. En la regardant au microscope, il la vit formée de grains brillants d'une substance fortement réfringente. Comme elle reste stérile quand on l'ensemence dans un nouveau milieu, comme on la voit se former dans un milieu rendu stérile par du thymol, comme elle se forme autour de particules d'endosperme chauffées à 160°, il n'est pas possible de l'attribuer à des bactéries. Elle est faite, dit-il, de gouttelettes grasses, chassées sans doute des cellules brisées par des phénomènes d'endosmose, et se diffusant jusqu'à une certaine distance dans la gélatine chaude et encore liquide. On l'obtient en quelques minutes en portant un instant à l'ébullition la gélatine avec des fragments d'endosperme, et en la refroidissant aussi vite que possible, sans l'agiter, sous un courant d'eau. Si on l'observe de préférence avec l'endosperme, c'est que le tissu de cet organe est plus riche en matière grasse que le tissu environnant.

Dans une note plus récente ¹, M. Lehmann confirme les conclusions de M. Büchner relativement à l'absence des microbes dans les tissus. Il dit seulement que l'auréole n'est pas faite de gouttelettes grasses, mais de sels précipités, solubles dans les acides, tels que le serait du phosphate de chaux.

Dx.

1. *Munch. med. Woch.*, 12 février 1889.

INSTITUT PASTEUR

Personnes traitées mortes de la rage.

RAY (Ernest), 7 ans, d'Oissel (Seine-Inférieure). Mordu par un chien le 13 décembre 1888. On compte 7 morsures réparties sur la joue droite, ces morsures sont pénétrantes, ont donné beaucoup de sang. Une de ces plaies a nécessité une suture des lambeaux. Sur la joue gauche, une morsure allant de l'aile du nez à la commissure des lèvres; la plaie a été fermée par quatre points de suture. Sur la lèvre supérieure, une morsure ayant traversé la lèvre et nécessité une suture. En tout 9 morsures. Ces blessures ont été lavées à l'alcool camphré six heures après qu'elles ont été faites.

Le chien mordeur, reconnu enragé par M. Philippe, vétérinaire, avait été mordu par un chien inconnu, poursuivi comme enragé.

Ray a été mis en traitement 4 jours après les morsures. Il a été traité du 27 décembre au 6 janvier. Pris de rage, il a succombé le 4 mars.

MAHOUT (Édouard), 8 ans, à Levallois-Perret (Seine), Mordu le 31 janvier 1888 à l'aile gauche du nez et à la paupière inférieure gauche. Ces deux blessures ont saigné. Aucune cautérisation. Le chien mordeur a été reconnu enragé par M. Latour, vétérinaire.

Mahout a été traité du 3 au 24 février. Le 6 mars 1889, l'enfant se plaint de mal de gorge. Un médecin appelé constate une angine. Le 8 février, l'aérophobie et l'hydrophobie apparaissent et la mort survient le 9 février.

Personnes prises de rage dans le cours du traitement.

ARENÈS (Gilles), 50 ans, de Soler (Pyrénées-Orientales). Mordu à la lèvre supérieure, un peu à gauche, le 26 janvier. La lèvre est traversée dans toute son épaisseur par deux blessures qui ont beaucoup saigné. Aucune cautérisation.

Arenès a été mis en traitement le 29 janvier. Le 18 février, il paraît triste et abattu. Le changement survenu dans son attitude est surprenant, il ne parle presque plus. Le 20 il se plaint de mal de tête; le 22 il est très excité, dans la journée il a de la difficulté à boire; il est conduit l'Hôtel-Dieu. Tous les symptômes de la rage convulsive s'accusent de plus en plus; il meurt le 24 février.

INSTITUT PASTEUR

STATISTIQUE ¹ DU TRAITEMENT PRÉVENTIF DE LA RAGE. — FÉVRIER 1889.

| | A | | B | | C | |
|--|----|----|----|----|----|----|
| Morsures à la tête { simples..... | » | » | » | 1 | » | » |
| et à la figure { multiples.... | » | 1 | » | » | » | » |
| Cautérisations efficaces..... | » | » | » | » | » | » |
| — inefficaces..... | » | » | 1 | » | » | » |
| Pas de cautérisation..... | 1 | » | » | » | » | » |
| Morsures aux mains { simples..... | » | 18 | » | 24 | » | 2 |
| multiples.... | » | 19 | » | 31 | » | 6 |
| Cautérisations efficaces..... | 2 | » | » | » | » | » |
| — inefficaces..... | 10 | » | 12 | » | 4 | » |
| Pas de cautérisation..... | 25 | » | 43 | » | 4 | » |
| Morsures aux mem- { simples..... | » | 4 | » | 19 | » | 4 |
| bres et au tronc { multiples.... | » | 8 | » | 13 | » | 5 |
| Cautérisations efficaces..... | 1 | » | 6 | » | 1 | » |
| — inefficaces..... | 4 | » | 15 | » | 3 | » |
| Pas de cautérisation..... | 7 | » | 11 | » | 5 | » |
| Habits déchirés..... | 12 | » | 29 | » | 9 | » |
| Morsures à nu..... | » | » | 3 | » | » | » |
| Morsures multiples en divers points du corps..... | » | 2 | » | 2 | » | 1 |
| Cautérisations efficaces..... | » | » | » | » | » | » |
| — inefficaces..... | » | » | 2 | » | » | » |
| Pas de cautérisation..... | 2 | » | » | » | 1 | » |
| Habits déchirés..... | 2 | » | 1 | » | 1 | » |
| Morsures à nu..... | 2 | » | 2 | » | 1 | » |
| Totaux. { Français et Algériens.. | .. | 45 | .. | 83 | .. | 16 |
| Etrangers..... | .. | 7 | .. | 7 | .. | 2 |
| | A | | B | | C | |
| TOTAL GÉNÉRAL..... 160 | | | | | | |

1. La colonne A comprend les personnes mordues par des animaux dont la rage est reconnue expérimentalement; La colonne B celles mordues par des animaux reconnus enragés à l'examen vétérinaire; La colonne C les personnes mordues par des animaux suspects de rage.

Les animaux mordeurs ont été :

Chiens, 153 fois; chats, 5 fois; vaches, 2 fois.

Le Gérant : G. MASSON.

Sceaux. — Imprimerie Charaire et fils.